

518145772
R. 9.387

8

T/ Foll
0-089.87
LOP



UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

DEPARTAMENTO DE MEDICINA Y CIRUGÍA BUCOFACIAL

**PAPEL DE LA INTERLEUQUINA-6 EN EL POSTOPERATORIO DE LA
CIRUGÍA DEL TERCER MOLAR INFERIOR**

TESIS DOCTORAL

**DIRECTORES: PROF. DR. JOSÉ M^a MARTÍNEZ-GONZÁLEZ
PROF. DR. MANUEL DONADO RODRÍGUEZ**

CARMEN LÓPEZ CARRICHES.



AÑO 2000

¡ 24804824

INFORME DEL DIRECTOR DE LA TESIS

El Prof. Dr. Manuel Donado Rodríguez y el Prof. Dr. José M^a Martínez González han dirigido el trabajo de investigación realizado por Doña Carmen López Carriches, considerando que reúne los requisitos necesarios para su defensa, tanto por los objetivos planteados, su hipótesis de trabajo, material utilizado y metodología, así como los resultados obtenidos y la discusión consiguiente, respondiendo las conclusiones a los objetivos formulados.

VºBº
EL TUTOR (2)

El Director de la Tesis

Fdo.: _____
(Fecha y firma)

DNI

Fdo.: MANUEL DONADO JOSÉ M^a MARTÍNEZ GONZÁLEZ
(Fecha y firma) 24-4-00 60740

DNI 10.717.106 A

278966-E

INFORME DEL CONSEJO DE DEPARTAMENTO

Reunido este consejo de Departamento en la fecha abajo indicada, considera que el trabajo de investigación "PAPEL DE LA INTERLEUQUINA-6 EN EL POSTOPERATORIO DE LA CIRUGÍA DEL TERCER MOLAR INFERIOR", realizado en este Departamento, cumple los objetivos investigadores del mismo, enjuiciándolo de forma positiva tanto en su planteamiento como en su desarrollo, por lo que se considera que reúne las condiciones para ser presentado como tesis doctoral.

Fecha reunión
Consejo Departamento

27-4-00

El Director del Departamento

Fdo.: MANUEL DONADO RODRÍGUEZ
(Fecha y firma)

A mi madre

Mi agradecimiento sincero:

Al Prof. Dr. Manuel Donado Rodríguez, por haberme permitido realizar este estudio en su Departamento y bajo su dirección.

Al Prof. Dr. José M^a Martínez-González, investigador incansable, que ha sido el impulsor, no sólo de esta tesis, sino de todos aquellos proyectos que he realizado en la Facultad.

A mis compañeros del Máster de Cirugía por su apoyo y amistad durante estos años de aprendizaje.

Al Prof. Dr. Mariano Sanz Alonso, por prestarme desinteresadamente gran parte del equipo necesario para la realización de la tesis.

Al Dr. Pedro Cuesta Alvaro, que tan amablemente ha realizado el estudio estadístico.

Al equipo del laboratorio de Microbiología de la Facultad de Odontología, que con mucha paciencia, han llevado a cabo la prueba ELISA.

A Paloma y María, sin cuya colaboración la parte quirúrgica no se hubiera podido llevar a cabo.

Al Dr. Jorge Gamonal, del Centro de Investigaciones Científicas, gran conocedor de las citoquinas, por su orientación en este trabajo.

A mi familia, por su apoyo constante.

A Eloy Celaya, por su cariño y comprensión en estos años de trabajo.

ÍNDICE

1-ANTECEDENTES Y JUSTIFICACIÓN	3
2-HIPÓTESIS DE TRABAJO. OBJETIVOS	7
3-INTRODUCCIÓN.....	9
3.1-Citoquinas. Generalidades.	9
3.2-Clasificación	13
a) Interleuquinas.....	15
b) Agentes citotóxicos	43
c) Interferones	46
d) Factores estimuladores de colonia	48
e) Factores de crecimiento	50
3.3 Citoquinas y patología	50
3.4 Modulación terapéutica de citoquinas	53
3.5 Postoperatorio del tercer molar inferior.....	58
4. MATERIALES Y METODOLOGÍA.....	69
4.1 Materiales.....	69
4.2 Metodología	73
4.3 Anexo.....	87
5. ANÁLISIS DE RESULTADOS.....	91
6. DISCUSIÓN.....	199
7. CONCLUSIONES.....	223
8. BIBLIOGRAFÍA.....	225

1.-ANTECEDENTES Y JUSTIFICACIÓN

La extracción quirúrgica del tercer molar inferior es la práctica más habitual en la Cirugía Bucal; una gran cantidad de pacientes demandan su extracción por problemas en su erupción, entre los que destacan accidentes infecciosos, mecánicos, reflejos y tumorales. ⁽¹⁾

Este tipo de cirugía suele tener consecuencias clínicas para el paciente (dolor postoperatorio, inflamación y trismo) y repercusiones sociales (absentismo laboral, gasto farmacológico, etc.)

Se ha comenzado a investigar, en los últimos años, la utilidad de ciertas citoquinas, como interleuquina-1 e interleuquina-6, como marcadores de actividad en la periodontitis, pero, hasta nuestro conocimiento, no hay estudios publicados que valoren estas sustancias en la cirugía del tercer molar inferior. ^(2,3,4,5,6,7)

Las citoquinas son proteínas y glicoproteínas multifuncionales que actúan como factores reguladores intercelulares, tanto locales como sistémicos. Entre ellas se incluyen, además de las interleuquinas, factores citotóxicos, factores de diferenciación, factores de crecimiento, etc. Se comenzaron a estudiar en los años sesenta y setenta y hoy, gracias al desarrollo y aplicación de modernas técnicas de purificación de proteínas y microsecuencia, así como de expresión proteica, se sabe mucho más de este gran número de proteínas.

Estas sustancias interaccionan con receptores de alta afinidad específicos y presentan un efecto sinérgico entre ellas, al mismo tiempo que existen mecanismos reguladores de su producción, algunos de los cuales todavía no son bien conocidos.

Las citoquinas tienen muchas funciones, entre ellas regular el crecimiento, diferenciación y proliferación de los linfocitos T y B y pueden inducir la diferenciación y proliferación de células hematopoyéticas. El grupo más amplio y más estudiado es el de las interleuquinas, de éstas, la IL-6 juega un importante papel en la inflamación, junto a IL-1 y Factor de Necrosis Tumoral (TNF). La respuesta del huésped a las lesiones y a la infección implica la producción de IL-6, por tanto sabemos que las citoquinas son necesarias en la respuesta a las lesiones e infección, pero no hay que olvidar que una sobreproducción de citoquinas puede conducir a

patología sistémica o tisular. Por ejemplo, la IL-6 es un mediador de inflamación y destrucción tisular encontrado en la artritis reumatoide. Se sabe que varias citoquinas están implicadas en ciertas enfermedades como shock séptico, parasitemia, cáncer, sarcoidosis, etc.⁽⁸⁾ De hecho, se están realizando estudios in vitro de sangre de pacientes con varias enfermedades, para cuantificar la liberación de IL-6 relacionada específicamente con cada enfermedad.⁽⁹⁾

Una función muy importante de la IL-6 es la regulación de la biosíntesis de proteínas de fase aguda: la IL-6 estimula el espectro completo de estas proteínas: fibrinógeno, α -1 antitripsina, α -1 glicoproteína ácida, proteína C reactiva, etc.^(10,11) Esto indica que participa activamente en la inflamación aguda.^(12,13)

Numerosas observaciones indican que los niveles de IL-6 en los fluidos corporales se incrementan rápidamente tras la infección. Tras la inyección de lipopolisacáridos en el ratón, los niveles séricos de IL-6 se elevan tras 30 minutos⁽¹¹⁾. En voluntarios tratados con endotoxina el pico de IL-6 circulante se alcanzó entre una y cuatro horas después. Además la IL-6 empieza a disminuir con la temperatura corporal y otros signos de mejoría del estado inflamatorio.⁽¹⁴⁾ Estos niveles elevados de IL-6 en plasma cuando hay una infección o inflamación aguda indican una función exocrina, como de hormona.⁽¹⁵⁾

Otra de sus funciones es participar en la reabsorción ósea: estimula la diferenciación de osteoclastos.^(16,17) Esto tiene importantes repercusiones en Periodoncia e Implantología.

Actualmente se está estudiando, a nivel general, si la inhibición selectiva de la síntesis o de la acción de citoquinas específicas puede tener beneficios terapéuticos.⁽¹⁸⁾ Las grandes compañías farmacológicas intentan descubrir fármacos que frenen ciertas acciones de las citoquinas, realizándose actualmente investigaciones con inmunosupresores, anticuerpos monoclonales, receptores solubles de citoquinas, etc. A pesar de todos los esfuerzos no hay resultados concluyentes debido en gran parte al gran número de interacciones de las citoquinas que hace que su comportamiento “in vitro” no pueda ser igual “in vivo”. Se sabe que los glucocorticoides, así como las prostaglandinas, inhiben ciertas citoquinas.⁽¹⁹⁾

A nivel del territorio maxilofacial, Miyawaki y colaboradores⁽²⁰⁾ han comprobado que el nivel de IL-6 en plasma se eleva tras someter a los pacientes a distintas intervenciones (quistectomías, extirpación de tumores benignos, etc.) por lo que es de suponer que tras la agresión que supone la exodoncia quirúrgica del tercer molar inferior se liberen gran cantidad de citoquinas localmente (entre ellas IL-6) y sean éstas en gran parte responsables de las complicaciones postquirúrgicas.

Basándonos en estas aportaciones, consideramos justificado en el momento actual la realización de un estudio sobre interleuquina-6 que pueda demostrarnos su participación e implicación en la cirugía de los terceros molares inferiores. ,

2.- HIPÓTESIS DE TRABAJO. OBJETIVOS.

Cruickshank y colaboradores ⁽²¹⁾ evaluaron la respuesta de IL-6 en pacientes sometidos a cirugías de diferente magnitud (cirugía menor, colecistectomía, cirugía de cadera, colorrectal y cirugía vascular mayor). En todos los casos la IL-6 en suero se elevó entre 2 y 4 horas después de la incisión y la magnitud de la respuesta fue distinta en los cinco grupos. Los niveles de IL-6 se correlacionaban con la duración de la cirugía. Los autores concluyeron que la IL-6 es un marcador sensitivo y temprano del daño tisular. En general, cuanto más grande es el daño quirúrgico más grande es la respuesta en suero de IL-6 y más grande el pico de concentración en suero de dicha citoquina. El pico máximo de IL-6 se alcanzó a las 6-12 horas de la intervención. En otros estudios el pico máximo de concentración se alcanzaba a las 24 horas. ⁽²²⁾

La IL-1 aunque también es uno de los mediadores principales de la respuesta de fase aguda en humanos, no se detecta tan fácilmente tras el trauma quirúrgico. En estudios de Baigrie y colaboradores ⁽²³⁾ sobre pacientes subsidiarios de cirugía aórtica y de reparación de hernia inguinal se detectó IL-1 sólo en el periodo peroperatorio. Esta liberación de IL-1 fue anterior a la de IL-6 lo que coincide con la observación “in vitro” de que la IL-1 induce la síntesis y liberación de IL-6.

En estudios de Di Padova ⁽²⁴⁾ sobre IL-6 y cirugía se comprobó que los pacientes que tuvieron algún tipo de complicación postoperatoria tenían niveles significativamente más elevados de IL-6. Una exagerada y temprana respuesta de IL-6 se asoció con el desarrollo clínico de complicaciones, como infección. La IL-6 podría ser de gran ayuda en la identificación de pacientes que van a desarrollar complicaciones para proporcionarles una monitorización más cuidadosa.

Al igual que en otras cirugías, a nivel del territorio maxilofacial se elevan los niveles de IL-6 en plasma (quistectomía, extirpación de tumores benignos, etc) ⁽²⁰⁾

Nuestra hipótesis de trabajo es que tras la cirugía del tercer molar inferior se liberan gran cantidad de citoquinas y éstas podrían ser las responsables de las complicaciones postoperatorias (dolor, inflamación y trismo). De este modo, el nivel de citoquinas en plasma, podría estar asociado con la magnitud del daño tisular causado con la cirugía. Al ser la IL-6 una de las citoquinas con más actividad

proinflamatoria ^(21,22,23,25) y que más se eleva tras una intervención quirúrgica, asumimos que es la que más participa en las complicaciones tras la cirugía del tercer molar inferior, por eso será la que evaluemos.

Del mismo modo hipotetizamos que la concentración de IL-6 podría variar según el antiinflamatorio utilizado en el postoperatorio, pues varios estudios confirman que los glucocorticoides inhiben la producción de esta citoquina ^(26,27,28)

Hemos elegido como antiinflamatorio no esteroideo el diclofenaco sódico por haberse usado durante años en este tipo de intervención y estar respaldada su eficacia por numerosos estudios de investigación.⁽²⁹⁾ Como corticoide hemos utilizado la metilprednisolona por poder ser usado fácilmente por vía oral y ser de acción corta suprimiendo así menos el eje hipotálamo-hipofisario.

Para comprobar nuestra hipótesis nos planteamos como OBJETIVOS los siguientes:

- 1.- Determinar si tras la cirugía del tercer molar inferior se produce una liberación de IL-6 como en otros tipos de cirugía.
- 2.- Comprobar si existen diferencias en la evolución tras el tratamiento quirúrgico (grado de dolor, inflamación y trismo) según los niveles de IL-6 presentes en el fluido crevicular gingival.
- 3.- Relacionar el tiempo de intervención con la liberación de IL-6.
- 4.- Comparar la cantidad de IL-6 en pacientes que tomaron AINES y en aquellos que tomaron glucocorticoides.
- 5.- Determinar en qué grupo de pacientes el postoperatorio es más favorable.

3.- INTRODUCCIÓN

3.1. CITOQUINAS. GENERALIDADES

CONCEPTO

Las citoquinas son un grupo creciente de potentes proteínas multifuncionales, alguna de ellas glucosiladas (glucopéptidos), que actúan como factores reguladores intercelulares locales y/o sistémicos.⁽³⁰⁾

Estas sustancias ejercen un efecto pleiotrópico, es decir, actúan a nivel de diferentes tipos celulares que se encuentran en su vecindad (efecto paracrino) e incluso en la misma célula que las produce (efecto autocrino). Si los niveles de secreción son elevados, pueden pasar a la circulación sistémica actuando de forma similar a las sustancias hormonales. La expresión de su actividad viene condicionada por el microambiente en el que son generadas, dependiendo su función, de su concentración y de la célula sobre la que actúan. Interaccionan con receptores de alta afinidad específicos y presentan un efecto sinérgico entre ellas, al mismo tiempo que existen mecanismos reguladores de su producción.⁽³¹⁾

Regulan todos los procesos biológicos importantes: Crecimiento y activación celulares, inflamación, inmunidad, reparación hística, fibrosis y morfogénesis. Algunas citoquinas son también quimiotácticas para determinados grupos celulares.⁽⁸⁾

Se pueden resumir en dos las acciones de las citoquinas:

- 1.- Modulación de la actividad celular (metabolismo, síntesis, secreción).
- 2.- Modulación de la división/diferenciación celular.⁽¹⁸⁾

Se diferencian de las hormonas clásicas por varios motivos: Están sintetizadas normalmente por más de una célula, tienen un amplio abanico de acciones biológicas que se solapan y generalmente actúan sólo a cortas distancias.

La mayoría de las células de mamíferos son capaces de producir varias citoquinas y de responder a varias citoquinas a través de receptores de superficie.⁽³⁰⁾

Aunque, como hemos dicho, las citoquinas son responsables de importantes funciones homeostáticas, así como del mantenimiento de poblaciones celulares y de la respuesta de fase aguda a la infección, una sobreproducción de citoquinas puede conducir a patología sistémica o tisular. Por ejemplo, la Interleuquina-1(IL-1) es un mediador clave de la inflamación y la destrucción tisular en la artritis reumatoide, que es una enfermedad autoinmune. También pueden ser responsables de lesiones tisulares en varias enfermedades desde las lesiones de infecciones agudas, como el shock séptico, hasta las enfermedades infecciosas crónicas, como el SIDA y enfermedades crónicas idiopáticas como esclerodermia y sarcoidosis. También están envueltas en la patogénesis del cáncer.⁽¹⁸⁾

Las características de las citoquinas se pueden resumir, por tanto, como sigue:

- 1.- Son proteínas secretadas, a menudo glicosiladas de bajo peso molecular. (< 80 kDa).
- 2.- Participan en la inmunidad e inflamación donde regulan la amplitud y duración de la respuesta. La secreción de citoquinas es un suceso breve y autolimitante. La producción basal normalmente está ausente u ocurre a niveles muy bajos.
- 3.- Las citoquinas, en común con otras hormonas, inician su acción uniéndose a receptores específicos en la superficie de las células diana. La densidad de los receptores puede variar de 10 a 10.000/célula. Estos receptores normalmente son de alta afinidad. Además de estos receptores de superficie, también existen receptores solubles. Las citoquinas tienden a ser paracrinas (actúan en células cercanas) o autocrinas (actúan en la misma célula), más que endocrinas (secretadas en la circulación para actuar en una célula distante)
- 4.- La activación de los receptores de superficie conduce a un cambio en el patrón celular de RNA y la síntesis de proteínas y a un comportamiento celular alterado.
- 5.- Las citoquinas actúan en muchos tipos de células diferentes (pleiotropismo) y muchas tienen los mismos efectos que otras (redundancia)
- 6.- Las citoquinas a menudo influyen en la síntesis y acción de otras citoquinas. Existe el concepto de cascada de citoquinas ya que se ha visto que la liberación de

citoquinas suele ser secuencial, aunque esta cascada tiene muchas variaciones según el carácter y el momento del agente estimulador, por ejemplo, ante bacterias Gramnegativas hay una liberación secuencial de TNF, IL-1 e IL-6 e IL-8.⁽³²⁾ La inducción de la síntesis de una citoquina por otras puede promover la amplificación de respuestas biológicas tal como el desarrollo de la respuesta inflamatoria en el lugar de una lesión tisular.⁽³³⁾

7.- Las citoquinas a menudo tienen múltiples efectos en la misma célula.

8.- Las citoquinas actúan como reguladores de la división celular en muchas células diana, es decir, como factores de crecimiento y en gran cantidad de ocasiones sus acciones están dirigidas a células hematopoyéticas.⁽³⁴⁾

9.- La respuesta de una célula a una citoquina dada depende de la concentración local de la citoquina, el tipo de célula y otros reguladores celulares a los cuales está expuesta al mismo tiempo.^(35,36)

ASPECTOS GENERALES DE LA BIOLOGÍA DE CITOQUINAS

Las citoquinas proceden de diferentes células. Algunas como IL-2 proceden principalmente de un solo tipo de células (células T) mientras que otras, como la IL-1 y la IL-6, pueden estar producidas por células muy diferentes. La principal fuente de citoquinas son los macrófagos y las células T. Las células diana de la acción de las citoquinas, también pueden ser restringidas o de muy diversos tipos. Como ya se ha comentado, muchas citoquinas son pleiotrópicas, es decir, tienen múltiples actividades en diferentes células diana. No se sabe bien cómo una molécula puede ejercer efectos tan diferentes en diferentes células diana, puede ser que el mismo receptor utilice diferentes vías de señal intracelular en diferentes células. El receptor también influye en el tipo de respuesta, así, citoquinas que estructuralmente no están muy relacionadas, como TNF y LT tienen efectos biológicos muy similares por unirse al mismo receptor. También ocurre que citoquinas que no están relacionadas y que se unen a distintos receptores, como IL-1, IL-6 y TNF, algunas veces comparten actividades biológicas similares. Esto podría ser porque los distintos receptores de citoquinas usan los mismos mecanismos de señal dentro de la célula.

Otro importante aspecto de las citoquinas es que frecuentemente trabajan juntas para producir efectos, por ejemplo, IL-2 e IL-4 tienen sinergismo para causar proliferación de células T. Sus actividades también pueden ser antagónicas, así, TGF- β inhibe la producción de IL-2 por células T. ^(37,38) Es decir, a las citoquinas no se les puede considerar de forma aislada sino que operan en el contexto de una red de citoquinas. ^(33,34)

Son diversos los estímulos que regulan la producción de citoquinas, la mayoría de las veces son infecciones virales, bacterianas y por parásitos. ⁽³⁸⁾ El agente más importante suele ser el componente lipopolisacárido de las bacterias Gramnegativas (LPS), que es un componente integral de la pared de la bacteria. Los macrófagos y otros tipos de células se pueden activar por los LPS y producen rápidamente mediadores que tienen actividades bactericidas (óxido nítrico) y citoquinas. ^(39,40) Otros estímulos para la producción de citoquinas provienen de la matriz extracelular, por ejemplo, la adherencia de monocitos y macrófagos a fibronectina induce la transcripción de GM-CSF y la adherencia a colágeno induce IL-1 y TNF- α . También se inducen citoquinas mediante la adhesión intercelular, así, la unión de macrófagos a células tumorales induce TNF- α . ⁽⁴¹⁾

ANTECEDENTES HISTÓRICOS

El conocimiento de las citoquinas comenzó con el estudio de la pirexia: William Welch en 1888 ⁽⁴²⁾ dijo que la fiebre resulta del desequilibrio de la regulación normal de la temperatura del cuerpo en el cerebro causado por “fermentos” producidos por la acción de microbios o sus productos en la célula huésped.

Pero hasta mediados de los cincuenta no se descubrió que los leucocitos de los mamíferos producían una proteína que causa fiebre al inyectarla en animales. Esta proteína se llamó “granulocito pirógeno”, “leucocito pirógeno”, “pirógeno endógeno” y más tarde “mediador endógeno de leucocito”. ⁽⁴²⁾

Otro factor que contribuyó al desarrollo de nuestro conocimiento de las citoquinas fue la demostración de que linfocitos sensibilizados, cuando se exponían al antígeno, liberaban un factor soluble que inhibía la migración de macrófagos, denominado factor inhibidor de la migración de macrófagos. ⁽⁴²⁾ Se describieron otros

factores derivados de linfocitos y por ello se acuñó el término de linfoquina para describir estos factores antígeno-específicos.

Más tarde se descubrió que el factor activador de linfocitos, necesario en la proliferación de linfocitos, era idéntico al pirógeno endógeno.⁽⁴³⁾

Esta molécula se denominó Interleuquina-1 (IL-1) en el Segundo Congreso Internacional de Linfoquinas en 1979, que tuvo lugar en Suecia. Desde entonces hasta hoy se han descubierto más de 40 citoquinas.

El término citoquina fue sugerido para definir proteínas derivadas de otras células distintas de linfocitos (que producen linfoquinas) y distintas de fagocitos mononucleares (que producen monoquinas).⁽⁴⁴⁾

El término interleuquina fue introducido para describir factores que facilitaban la comunicación entre leucocitos. Hay 17 citoquinas que han sido denominadas interleuquinas, aunque ciertas interleuquinas están producidas por células que no son leucocitos y pueden actuar sobre células que no son leucocitos. Esta denominación se tomó de la nomenclatura de la Unión Internacional de Sociedades de Inmunología.⁽³⁷⁾

El Factor de Necrosis Tumoral (TNF) fue descrito por su actividad citotóxica que mataba células tumorales. Ahora se sabe que tiene muchas más actividades sobre todo como mediador de la fase aguda y la respuesta inflamatoria.⁽⁴⁵⁾

Algunas citoquinas poseen un estrecho margen de actividades biológicas (ej. eritropoyetina) mientras que otras como la IL-1 tienen múltiples actividades lo que hace difícil clasificarlas.

3.2. CLASIFICACIÓN

Pueden ser divididas en cinco familias:

- 1.- Interleuquinas.
- 2.- Agentes citotóxicos.
- 3.- Interferones.

- 4.- Factores estimuladores de colonia.
- 5.- Factores de crecimiento.

También se pueden clasificar en cuatro grandes grupos según sus acciones biológicas, aunque muchas citoquinas pueden tener funciones en más de una de esas categorías:

1.- ***Mediadores de la inmunidad natural.*** Son citoquinas que protegen contra la infección viral y las que son responsables de la respuesta inflamatoria protectora contra las bacterias como TNF, IL-1, IL-6 y las quimioquinas (citoquinas cuyo principal efecto es la quimiotaxis de leucocitos).

2.- ***Regulación de la activación de linfocitos, crecimiento y diferenciación.*** Están implicadas en el desarrollo de subunidades específicas de linfocitos. La subunidad determina el tipo de respuesta inmune. Son entre otras la IL-2, que favorece una respuesta inmune mediada por células y la IL-4, que participa en la respuesta alérgica.

3.- ***Reguladores de la inflamación inmunomediada.*** Activan células inflamatorias no específicas en respuesta al reconocimiento de antígenos específicos por linfocitos T. IFN- γ activa macrófagos para fagocitar microbios. También están GM-CSF y en menor medida IL-1 y TNF.

4.- ***Estimuladores del crecimiento y diferenciación de leucocitos inmaduros.*** Estas citoquinas se denominan colectivamente factores estimuladores de colonia (colony stimulating factors -CSF-) y específicamente incluyen factores estimuladores de colonia de granulocitos -G-CSF-, de monocitos -M-CSF- y de granulocitos y monocitos -GM-CSF-.⁽³⁵⁾

Antes de centrarnos en la IL-6, objeto de nuestra investigación, haremos un breve repaso de las principales citoquinas.

INTERLEUQUINAS

INTERLEUQUINA-1 (IL-1)

Es el nombre con el que, desde 1979, se conoce a un factor que recibió en un principio diversas denominaciones: Pirógeno endógeno (endogen pyrogen-EP-), factor activador linfocitario (lymphocyte activating factor-LAF-), factor celular mononuclear (mononuclear cell factor-MCF-), mediador endógeno leucocitario (leucocyte endogenous mediator-LEM-), factor activador de células B (B cell activating factor-BAF-). Estas sustancias se caracterizaron y se demostró que tenían unas características comunes.⁽³¹⁾

La IL-1 es una proteína ácida de 12-18 kDa que en su forma más estable tiene un peso molecular de 17kDa. Comprende dos proteínas inflamatorias, IL-1 α e IL-1 β , que son codificadas por dos genes. Sus secuencias de aminoácidos tienen sólo un 26% de similitud, pero sus actividades biológicas son comparables con pequeñas excepciones; ambas moléculas parecen actuar en el mismo receptor.^(45,46,47,48,49)

La IL-1 β actúa como mediador soluble, mientras que la IL-1 α permanece principalmente asociada a células y es activa durante el contacto célula-célula.⁽⁵⁰⁾

La fuente principal de IL-1 son los monocitos y macrófagos, aunque también se dan en otros tipos de celulares, como se detalla a continuación:

- MONOCITOS: Sangre.
 Placenta.
- MACRÓFAGOS TISULARES: Macrófagos alveolares.
 Células de Kupffer.
 Células sinoviales.
 Macrófagos peritoneales.
- LINFOCITOS: Células T helper.
 CélulasB.
 Natural Killer.

- CÉLULAS VASCULARES: Células de músculo liso.
Células endoteliales.
- CÉLULAS DEL CEREBRO: Astrocitos.
Microglia.
Células del glioma.
- CÉLULAS DE LA PIEL: Queratinocitos.
Células de Langerhans.
- OTRAS: Células dendríticas.
Células mesangiales del riñón.
Neutrófilos.
Fibroblastos.
Condrocitos.
Epitelio corneal.
Células epiteliales tímicas.
Células neurales noradrenérgicas. ^(19,51,52,53)

Las relaciones de la IL-1 con otras citoquinas y otros tejidos diferenciados sugieren que es un mediador básico de comunicación intercelular tanto en el sistema inmune como en otros sistemas de órganos. Tiene un significado homeostático y patogénico. ⁽⁵⁴⁾

En cuanto a sus funciones, los efectos sistémicos de la IL-1 se ejercen en el sistema nervioso central, médula ósea, pared de los vasos sanguíneos y otros tejidos e incluyen la inducción de cambios metabólicos. ^(45,55)

La IL-1 participa en la elevación de la temperatura corporal, produce cambios hemodinámicos y metabólicos y participa en la producción de una serie de proteínas de fase aguda en la inflamación y el estado de shock. En este sentido comparte muchas funciones con el Factor de Necrosis Tumoral (TNF). ^(56,57,58) Además, resultados de experimentos in vivo han demostrado que esta citoquina no sólo trabaja en el sistema inmune, sino que tiene una estrecha relación con el sistema neuroendocrino y el metabolismo. Estos hallazgos sugieren que esta citoquina es un

mediador muy importante en la inflamación.^(22,37,59) Además estimula la producción de IL-6 que también tiene actividad inflamatoria.⁽⁶⁰⁾

Otros efectos sistémicos de la IL-1 son: Disminución del apetito y aumento de la producción de factor estimulador de colonia de granulocito-macrófago, y entre los efectos locales destacan la quimiotaxis de células polimorfonucleares, linfocitos y monocitos, la adherencia de células blancas de la sangre a células endoteliales, la proliferación de fibroblastos y condrocitos, así como la estimulación de linfocitos T y B. Además la IL-1 puede aumentar más la quimiotaxis indirectamente, a través de la inducción de otras citoquinas quimioatrayentes.^(35,45) También se ha aislado IL-1 β en secreciones nasales de pacientes con rinitis alérgica.⁽⁶¹⁾ Otra función muy importante es que estimula la reabsorción ósea e inhibe la formación de hueso in vivo.^(62,63,64) Se ha encontrado IL-1 en carcinomas escamosos de cabeza y cuello lo que puede indicar que regula la respuesta inmune local a los tumores.⁽⁶⁵⁾

Debido a su participación en diversos procesos patológicos, se está estudiando la forma de inhibirla, sobre todo mediante antagonistas de receptor.^(66,67,68,69,70) o inhibiendo su procesamiento por la IL-1 convertasa (ICE), enzima imprescindible para el transporte de la IL-1 madura a través de la membrana celular.⁽⁷¹⁾

Estas y otras acciones biológicas de la citoquina proinflamatoria IL-1 se encuentran resumidas en las tablas 1 y 2.⁽¹⁹⁾

Tabla 1 : Acciones de la IL-1 in vivo⁽¹⁹⁾

Hipotensión
Fiebre
Pérdida de peso
Neutrofilia
Proteínas de fase aguda
Aumento hormonal: Corticosterona, ACTH, insulina, glucagón
Radioprotección
Acumulación neutrófila en articulaciones
Liberación de proteoglicanos en cartílago
Resistencia a infección bacteriana
Hipercalcemia
Excreción de sodio aumentada
Hiperlipidemia

Tabla 2 : Efectos de la IL-1 in vitro⁽¹⁹⁾**SISTEMA INMUNE****Células T**

Inducción del crecimiento

Factores de diferenciación

Quimiotaxis

Células B**Monocitos**Inducción de IL-1, PGE₂.

Citotoxicidad

Quimiotaxis

Células Natural Killer**Basófilos****Neutrófilos****Eosinófilos****Células dendríticas****Inducción de citoquinas y moléculas de adhesión en fibroblastos****Células endoteliales****Músculo liso vascular****SISTEMA NERVIOSO CENTRAL****HÍGADO****TEJIDOS MUSCULOESQUELÉTICOS**

Hueso

Cartílago

Fibroblastos

Sinoviocitos

TEJIDOS VASCULARES

Células endoteliales

EFFECTOS CITOSTÁTICOS/CITOTÓXICOS

INTERLEUQUINA-2 (IL-2)

Es una sustancia que, al igual que la IL-1, ha sido conocida con diversos nombres, siendo el más característico, debido a su primera acción conocida, que fue descrita en 1976, el de factor de crecimiento de la célula T (T cell growth factor-TCGF-).⁽⁵⁹⁾

Tanto la IL-2 humana como la del ratón han sido totalmente caracterizadas, la primera está constituida por una cadena polipeptídica de 153 aminoácidos y tiene un peso molecular de 14 a 17 kDa dependiendo de su grado de glicosilación.⁽⁴⁴⁾

A diferencia de otras interleuquinas, es secretada únicamente por células T, principalmente células CD4+, aunque las células CD8+, timocitos medulares y la subclase de linfocitos granulares largos (large granular lymphocytes-LGL-) pueden secretar IL-2.⁽⁷²⁾

La IL-2, una vez secretada por las células T activadas con mitógeno o antígeno, interacciona con su receptor, el cual es expresado por los linfocitos T y B, monocitos y células NK, ejerciendo diversas acciones sobre estas células: Estimula la proliferación de las propias células T (induce la síntesis de RNA) y la producción de linfoquinas por parte de dichas células como IL-2, factor estimulador de colonia (colony stimulating factor -CSF-), IL-4, interferón gamma (IFN- γ) y factor quimiotáctico derivado de los linfocitos (lymphocyte derived chemotactic factor -LDCF-) al mismo tiempo que incrementa la expresión de su propio receptor. Aunque todas las subpoblaciones de linfocitos y timocitos expresan el receptor de IL-2, éste ejerce su actividad principalmente en los linfocitos T citotóxicos. Estimula la proliferación de las células B (aproximadamente un 30% de las células B activadas expresan el receptor para IL-2), aumenta la actividad de las células NK, la actividad citotóxica de linfocitos y monocitos, incrementando también la síntesis de interferón alfa y beta (IFN- α y β) por las células mononucleadas.^(37,56,73)

La IL-2 se usa en terapéutica experimental anticancerosa, especialmente para el cáncer de células renales. La acción beneficiosa puede estar relacionada aquí con la activación de muchas células que pueden producir un efecto citotóxico anticanceroso.^(8,36) También se está estudiando su eficacia en el restablecimiento de la función inmune en el SIDA, además parece que puede activar las defensas del

huésped contra la infección. En general, se puede decir que la IL-2 podría ser un agente útil en restaurar la función inmune de pacientes inmunocomprometidos, incluyendo traumatizados y quemados.⁽⁷⁴⁾

La producción de la IL-2 puede ser inhibida por la cortisona, los inhibidores de la fosfolipasa A₂ y la ciclosporina A.⁽³¹⁾ La ciclosporina tiene potentes efectos inmunosupresores inhibiendo la producción de IL-2 y otras citoquinas derivadas de células T. Esta droga se usa para evitar los rechazos de los trasplantes de órganos y se está evaluando su uso en varias enfermedades autoinmunes.⁽⁷⁵⁾

INTERLEUQUINA 3 (IL-3)

Anteriormente se la ha conocido con diversos nombres: Factor de crecimiento de mastocitos (mast cell growth factor -MCGF-), factor estimulador de células P (P cell stimulating factor -PSF-), factor estimulador de colonias de eosinófilos (eosinophyl colony stimulating factor -ECSF-), factor estimulador de colonias (colony stimulating factor -CSF-).

Interleuquina- 3 es el nombre que se dio en 1981 a este factor que estaba producido por células T activadas. Este factor aparecía en las etapas tempranas de la diferenciación de las células T.⁽⁵⁹⁾

La IL-3 es un factor estimulador de colonias celulares (CSF) que participa en la regulación de la hematopoyesis ya que es un regulador de la diferenciación de células Stem para producir todos los tipos de colonias hematopoyéticas. Por sus efectos pro-hematopoyéticos, la IL-3 está siendo evaluada para su uso como estimulante de la médula ósea en enfermedades caracterizadas por una hipoplasia de médula ósea.⁽⁷⁵⁾

Estudios realizados en células humanas con IL-3 de primates han demostrado que dicha interleuquina estimula a las células no adherentes de la médula ósea a producir colonias de forma parecida a como lo realiza el GM-CSF. Dicha interleuquina estimula también la formación de megacariocitos y células eritroides al igual que la maduración de neutrófilos y macrófagos, la proliferación de los mastocitos y la función de los eosinófilos ya maduros. Sin embargo no ha sido posible demostrar una acción en la estimulación de los neutrófilos maduros. Estos

datos vendrían confirmados en estudios más recientes con IL-3 humana recombinante y GM-CSF en los que se demuestra que mientras que la primera actuaría básicamente a nivel de las líneas celulares eritroide y megacariocítica, el GM-CSF ejercería su función a nivel de la línea mieloide, si bien en algunos casos, sus acciones estarían superpuestas.^(37,76)

La IL-3 aumenta la síntesis de histamina por las células esplénicas y de la médula ósea e induce un aumento de la citotoxicidad.

La función de esta interleuquina es inhibida por la cortisona y la ciclosporina A.⁽³¹⁾

INTERLEUQUINA 4 (IL-4)

La IL-4 es una glicoproteína con un peso molecular de 20 kDa que se une a receptores de membrana de células de la línea hematopoyética, los cuales aún no han sido totalmente purificados. El gen que codifica a esta proteína en el hombre se ha localizado en el cromosoma 5.⁽⁵⁹⁾

Debido a su acción sobre el crecimiento de las células B, al principio se la conoció como factor 1 de crecimiento de la célula B (B cell growth factor 1-BCGF-1-), mientras que por su acción estimuladora se le denominó factor estimulador de la célula B (B cell stimulating factor 1-BCSF-1-).⁽³¹⁾

Es un factor producido por células T activadas que actúa sobre las células B en reposo, favoreciendo la entrada de las mismas en las fase G1 y S del ciclo celular, una vez han sido estimuladas. Actúa como factor de crecimiento de las células T (CD4+ y CD8+) tanto en las células T en reposo como en la fase G1, por lo que se le conoce como factor 2 de crecimiento de las células T (T cell growth factor-2-TCGF-2-).⁽⁷³⁾

Sus acciones son también ejercidas sobre precursores eritroides (actúa en sinergismo con la eritropoyetina para el crecimiento de colonias), precursores mielomonocíticos y megacariocíticos. Participa conjuntamente con la IL-3 en la división de los mastocitos e induce la diferenciación de los monocitos a macrófagos.

Posee actividad sobre los macrófagos, induciendo en ellos una acción tumoricida, por lo que se le conoce como un factor activador de macrófagos (macrophage activating factor-MAF-), al igual que GM-CSF e IFN. Se ha sugerido, que estas tres sustancias, que son distintas, pueden ejercer los mismos cambios en los macrófagos, aunque quizás en distintos tiempos de la respuesta inmune.⁽³¹⁾ El exceso de IL-4 desempeña un papel en la enfermedad alérgica, con aumento de la producción de IgE.^(8,44) De hecho los Ac anti-IL-4 suprimen drásticamente la producción de Ig-E, lo que puede tener aplicaciones clínicas en enfermos alérgicos.⁽³⁶⁾ La IL-4 administrada in vivo puede contribuir a la resolución de una respuesta inflamatoria por inducir selectivamente la expresión del antagonista de receptor de IL-1 en los monocitos.⁽⁵⁹⁾ Se está investigando su papel en la inhibición de la reabsorción ósea, lo que podría ser útil en muchas enfermedades.⁽⁶³⁾

INTERLEUQUINA 5 (IL-5)

Es el nombre con el que actualmente se conocen una serie de factores: factor reemplazador de la célula T (T cell replacing factor-1 - TCRF-1-), factor 2 de crecimiento de la célula B (B cell growth factor-2 -BCGF-2-), factor estimulador de colonias de eosinófilos (eosinophil colony stimulating factor -Eo-CSF-). Tiene un peso molecular de 45 Kda.⁽³¹⁾

Está producida por células T CD4+ activadas, pero también CD8+, células B y mastocitos.^(59,75)

La IL-5 es responsable de la eosinofilia de las enfermedades parasitarias.⁽⁸⁾ También induce la proliferación de basófilos y la secreción de histamina. En pacientes con asma se encuentran cantidades aumentadas de eosinófilos y sus productos de degranulación, además de cantidades elevadas de IL-5, por tanto, existe la posibilidad de usar anticuerpos anti-IL-5 u otros antagonistas de IL-5 en esta enfermedad.⁽⁷⁵⁾

INTERLEUQUINA 6 (IL-6)

La IL-6 es una citoquina multifuncional producida por varias células y que juega un papel central en los mecanismos de defensa del huésped,⁽⁷⁷⁾ ya que está envuelta en la respuesta inmune; media la respuesta inflamatoria de fase aguda y

participa en el crecimiento y diferenciación celular. La expresión de IL-6 es normalmente baja y los niveles séricos normalmente no son detectables en ausencia de inflamación. ^(78,79,80,81)

Se describió en 1980 como un producto de fibroblastos que había sido inducido por IFN- β y se denominó por ello IFN- β 2. ⁽¹⁴⁾ El laboratorio de Kishimoto⁽⁸²⁾ describió un factor que podía inducir a las células B activadas a madurar hasta convertirse en células secretoras de inmunoglobulinas. Se denominó Factor de Diferenciación de Células B (B-Cell Differentiation Factor -BCDF-) o Factor 2 Estimulador de Células B (B-Cell Stimulatory Factor 2-BSF-2-).

Aarden et al⁽⁸³⁾ describieron un producto derivado de monocitos que era un Factor de Crecimiento de Células B-Híbrido (B-Cell-Hybridoma Growth Factor-HGF-). Más tarde se vio que también era secretado por fibroblastos estimulados.

La misma molécula fue estudiada de forma paralela por otros grupos como un Factor Estimulador de Hepatocito (Hepatocyte-Stimulating Factor-HSF-) derivado de monocitos, un potente inductor de la síntesis de proteínas de fase aguda. ⁽⁸⁴⁾

En 1987 se demostró que todas estas moléculas eran idénticas mediante clonación molecular y para eliminar la confusión y unificar la nomenclatura se denominó IL-6 en 1988 en la Academia de las Ciencias de Nueva York. ⁽⁸⁴⁾

En la tabla 3 se detallan las moléculas idénticas a IL-6. ⁽⁸⁵⁾

Tabla 3: Moléculas idénticas a IL-6.

Factor 2 estimulador de células B (BSF₂)

Interferón β_2 (IFN β_2)

Proteína de 26 kDa

Factor de crecimiento mieloma/plasmocitoma

Factor estimulador de hepatocito

Factor 2 inductor de macrófago granulocito

Factor de diferenciación de células T citotóxicas

La IL-6 humana está compuesta por 212 aminoácidos con dos lugares potenciales de N-glicosilación y 4 residuos de cisteína. Hay un 42% de homología entre la IL-6 humana y de ratón. ^(84,86,87)

La secuencia de IL-6 se comparó con otras proteínas conocidas. Sólo G-CSF (factor estimulador de colonia de granulocitos) mostró una similitud con IL-6; la posición de los 4 residuos de cisteína en IL-6 coincidía con los de G-CSF, esto sugiere una similitud en la estructura terciaria de estas dos moléculas y puede indicar alguna similitud funcional.

La organización del gen de IL-6 muestra una inequívoca similitud con el gen de G-CSF. Esto sugiere que los genes para IL-6 y G-CSF podrían evolucionar de un gen ancestro común. ⁽⁸²⁾

La IL-6 es producida por varios tipos de células en respuesta a un estímulo apropiado. Estas células incluyen células T, células B, monocitos/macrófagos, fibroblastos, queratinocitos, células endoteliales, células mesangiales y varias células tumorales, como en el osteosarcoma, carcinoma de vejiga, mixoma, astrocitoma y glioblastoma. Por ello la IL-6 podría servir como marcador para ciertos tumores. ⁽¹⁴⁾

La tabla 4 incluye las células productoras de IL6. ^(11,21,26,76,79,82,85,86,88)

Tabla 4 : Células productoras de IL-6.

CÉLULAS NORMALES	Células T
	Células B
	Monocitos
	Fibroblastos
	Queratinocitos
	Células endoteliales
	Astroцитos
	Células del estroma de médula ósea
	Células mesangiales
LÍNEAS CELULARES	Líneas de células T
	Líneas de células monocíticas
	Líneas de células de osteosarcoma
	Líneas de carcinoma de vejiga
	Líneas de carcinoma de pulmón
	Línea de glioblastoma
	Línea de astrocitoma
CÉLULAS TUMORALES	Célula de mixoma cardíaco
	Célula de mieloma
	Hipernefroma

La producción de IL-6 es regulada positiva o negativamente en respuesta a varios estímulos, como infección, trauma, etc. Así, los lipopolisacáridos (LPS) aumentan la síntesis de IL-6 por monocitos y fibroblastos; IL-1, TNF, IFN- β y PDGF aumentan la producción de IL-6 en fibroblastos; IFN- γ induce la producción de IL-6 por macrófagos y células endoteliales; IL-4 estimula la síntesis de IL-6 en queratinocitos y células endoteliales mientras que inhibe la producción en monocitos y fibroblastos; IL-10 e IL-13 son inhibidores potentes de la producción de IL-6 por macrófagos y monocitos y TGF- β suprime la producción de IL-6 por monocitos humanos pero la aumenta por células epiteliales intestinales. Por tanto, varias citoquinas regulan la producción de IL-6. ^(10,11,14,82,86)

Varios virus inducen la producción de IL-6 en fibroblastos o en el sistema nervioso central. El virus de inmunodeficiencia humana induce la producción de IL-6 en monocitos. ⁽⁸²⁾

Los glucocorticoides regulan negativamente su producción. ⁽²⁶⁾ La IL-6 puede controlar su propia síntesis induciendo ACTH y consecuentemente la síntesis de corticoides. ⁽¹⁴⁾

La producción de IL-6 por células T necesita la presencia de monocitos, mientras que los monocitos producen IL-6 en ausencia de estímulos aparentes en cultivos in vitro. El pico de mRNA IL-6 en monocitos se alcanzó 5 horas después del cultivo, mientras que en el caso de células T fue de 24 a 48 horas después del inicio del cultivo, sugiriendo que la IL-6 producida por monocitos y células T pueden ejercer distintos efectos en diferentes fases de la respuesta inmune. ⁽⁸⁴⁾

La clonación molecular de cDNA de IL-6 indicó que la IL-6 tiene una amplia variedad de actividades biológicas en varias células y tejidos. ⁽¹⁰⁾ Originalmente fue identificada como una citoquina derivada de células T que inducía la maduración final de células B a células plasmáticas productoras de inmunoglobulinas. ^(87,89) Pero tiene otras funciones como regular la reacción de fase aguda, la respuesta inmune y la hematopoyesis, se relaciona con el sistema nervioso y juega, en definitiva, un papel central en los mecanismos de defensa del huésped. ⁽⁷⁷⁾

Quizás su papel más importante es la amplificación sistémica de la respuesta inflamatoria. ⁽⁵⁹⁾ Al contrario que otras citoquinas la IL-6 se puede detectar

sistémicamente tras una lesión local. La IL-6 es una de las pocas citoquinas elevadas constantemente tras la lesión. Los niveles de IL-6 se correlacionan con la magnitud de la lesión y el estado fisiológico. ^(56,76,90,91,92)

El suero normal tiene poca IL-6 detectable. Durante la inflamación los niveles plasmáticos de IL-6 en los pacientes se elevan de 2 a 100 veces dependiendo de la severidad de la inflamación. La IL-6 es un marcador muy sensible de la respuesta de fase aguda del huésped a la lesión o infección. ⁽¹⁴⁾ Está presente en pacientes con sepsis severa producida por microorganismos Grampositivos o Gramnegativos. ⁽¹³⁾

En voluntarios tratados con endotoxina el pico de IL-6 circulante se alcanzó entre una y cuatro horas después. Además la IL-6 empieza a disminuir con la temperatura corporal y otros signos de mejoría del estado inflamatorio. ⁽¹⁴⁾ Esto mismo se puede comprobar in vitro añadiendo endotoxina a sangre completa de voluntarios sanos: Midiendo la cantidad de IL-6 mediante ELISA, se puede observar que la concentración de IL-6 aumenta significativamente, siendo este aumento similar al descrito in vivo. De hecho, estudios in vitro de sangre de pacientes con varias enfermedades sirven para cuantificar la liberación de IL-6 relacionada específicamente con cada enfermedad. ⁽⁹⁾

Los niveles de IL-6 circulante se correlacionan directamente con la muerte tanto en modelos animales como en pacientes con shock endotóxico. La mortalidad se incrementa de forma longitudinal con el incremento en suero de IL-6. ^(85,93)

Los niveles de IL-6 en el fluido cerebroespinal son un indicador en la meningitis bacteriana o viral.

Esta citoquina también sirve para monitorizar rechazos en trasplantes renales ya que aumenta en sangre y orina del paciente trasplantado durante los episodios de rechazo agudo. ⁽⁸⁹⁾

Hay niveles de IL-6 aumentados en el fluido sinovial de pacientes con artritis reumatoide, los cuales muestran característicamente un aumento de las proteínas de fase aguda y plaquetas y producción de autoanticuerpos. Se ha observado un aumento de IL-6 en artritis inducida en ratones, así como de IL-1 y TNF, que son potentes inductores de IL-6. Es decir las citoquinas inflamatorias están envueltas en

la artritis reumatoide. No se sabe si la expresión anormal de estas citoquinas es el suceso primario en el proceso de la enfermedad o una consecuencia secundaria.^(25,77,80) También están aumentados en casos de enfermedad de Castleman (caracterizada por linfadenopatía con infiltrado masivo de células plasmáticas y síntomas sistémicos como aumento de las proteínas de fase aguda y plaquetas).⁽¹⁴⁾

La IL-6 aparece sistemáticamente en el suero de pacientes con trauma múltiple poco después de producirse el trauma y hay una correlación significativa con el grado de severidad del traumatismo. Se cree que su aumento drástico y continuado es uno de los factores responsables de la aparición de fracaso multiorgánico. De este modo la IL-6 sirve como marcador sensitivo de la severidad del traumatismo pues en los pacientes con fracaso multiorgánico el incremento dramático de IL-6 se asocia con el 100% de mortalidad, mientras que si hay fracaso multiorgánico pero no hay grandes elevaciones de IL-6 el pronóstico es mejor.⁽⁹⁴⁾

La IL-6 participa en enfermedades autoinmunes, osteoporosis, glomerulonefritis mesangial, mieloma múltiple, mixoma cardíaco, sarcoma de Kaposi asociado al SIDA, etc.⁽²⁶⁾

Actualmente se intenta neutralizar la IL-6 con inhibidores específicos para el tratamiento de varias enfermedades. Los receptores solubles son posibles candidatos como inhibidores específicos.^(80,86)

Tal y como se esperaba de la función pleiotrópica de la IL-6, sus receptores están expresados en varias células, como células B activadas, células T inactivas, líneas de células B linfoblastoides, líneas de células de mieloma, líneas de hepatoma y líneas de monocitos. El número de receptores está entre 10^2 y 10^3 y una línea de células de mieloma U266, expresa el máximo número de receptores, aproximadamente 1 a 2×10^4 , lo que encaja con la actividad de IL-6 como factor de crecimiento de mieloma.⁽¹¹⁾

El receptor de IL-6 consiste en una proteína de membrana de 80 KDa (denominada receptor de IL-6 -IL-6R-) que una vez unida a IL-6 interactúa posteriormente con una glicoproteína de membrana que no se une al ligando que es un transductor de señal, gp 130, que tiene una masa molecular de 130 KDa. Aunque IL-6 no se une a gp 130 en ausencia de IL-6R esta subunidad es la que confiere alta

afinidad a la unión de IL-6 y el receptor^(79,80,96,97) A gp 80 se le denomina también subunidad α y a gp130 subunidad β .⁽²⁶⁾ Este receptor pertenece a la superfamilia de las inmunoglobulinas y tiene 5 lugares posibles de N-glicosilación y el peso molecular de la proteína madura es de 80 kDa.^(77,82)

Se ha encontrado una forma soluble circulante de gp 80 en plasma y orina de voluntarios sanos. También se han encontrado receptores solubles similares para muchas citoquinas como IL-2, TNF, etc. Se cree que estos receptores solubles tienen una función neutralizante. Las citoquinas carecen de actividad biológica cuando se unen a su receptor soluble. La función de estos receptores solubles podría ser la protección del organismo contra el exceso de actividad de citoquinas peligrosas. Sin embargo, a diferencia de otros receptores solubles conocidos, el receptor soluble de IL-6 no parece ejercer un papel antagonista, sino que, por el contrario, parece aumentar la respuesta a IL-6.⁽⁹⁸⁾ No se conoce bien la relevancia clínica de este receptor circulante: Podría evitar el rápido aclaramiento de IL-6 de la sangre. En estudios realizados por Frieling y cols⁽⁹⁶⁾ había niveles detectables de este receptor soluble de IL-6 en sangre y orina de voluntarios sanos así como en fluido cerebroespinal y fluido sinovial, mientras que la concentración de IL-6 estaba bajo los niveles detectables en estos fluidos. Donde más se detectó el receptor soluble fue en sangre y se observaron grandes diferencias interindividuales.

Se sabe que el receptor de IL-6 tiene especificidad pues otras citoquinas como IL-1, TNF, IL-2, etc. no se unen a él.⁽⁸⁹⁾

Tabla 5: Número de receptores de IL-6

Número de receptores de IL-6 expresados en varias células	
CÉLULAS	Nº RECEPTOR/CÉLULA
Células B activadas	~ 500
Células B inactivas	No detectable
Células T inactivas	~ 300
Línea de linfoma de Burkitt	No detectable
Línea de células de mieloma	100-20.000
Línea de célula de hepatoma	2.000-3.000
líneas de células de leucemia mieloide	2.000-3.000

Tabla 6: Propiedades de IL-6 y su receptor

Propiedades físicoquímicas de IL-6 humana y receptor de IL-6		
	IL-6	Receptor de IL-6
Peso molecular (kDa)	21	80
Nº de aminoácidos	212	468
Lugares de N-glicosilación	2	5
Similitud de secuencia	G-CSF	Superfamilia de Ig
Estructura genómica	5 exons	No se sabe
Localización cromosomal	Cromosoma 5	No se sabe

En cuanto a los inhibidores de esta citoquina hemos comentado anteriormente que los glucocorticoides regulan negativamente la expresión del gen de IL-6 en varios tejidos y células.

El potente efecto estimulador de la IL-6 en la maduración de plaquetas y su potencial actividad antitumor justifica el futuro desarrollo clínico de este agente.

Si se da IL-6 recombinante humana a altas dosis a ratas, ratones y primates durante 10 días se produce un aumento de plaquetas, una ligera leucocitosis y anemia con pérdida de peso. Sin embargo no hay evidencia de hepato o nefrotoxicidad ya que el riñón y el hígado aparecen normales en el estudio anatomopatológico. La médula ósea se muestra ligeramente hiper celular y hay un aumento de megacariocitos. Por supuesto se producen también anticuerpos contra esta IL-6 recombinante humana.⁽⁸¹⁾ Estos efectos en monos son distintos según la edad del sujeto, pues mientras los monos de mediana edad tiene una disminución significativa de las funciones inmunes como resultado de la administración de IL-6, función que vuelve a los niveles pretratamiento a pesar de continuar con la administración los monos viejos tienen una disminución menos significativa pero más prolongada en el tiempo.⁽⁹⁹⁾ Basándonos en estos estudios el tratamiento clínico con IL-6 recombinante humana podría ser seguro. Sin embargo los efectos de la administración a largo plazo en humanos no puede ser valorada en estudios animales ya que producen anticuerpos neutralizantes en dos semanas de administración.

La regulación de los efectos de IL-6 se podría conseguir alterando el número de receptores en la célula diana (por ejemplo en los hepatocitos) o la cantidad de IL-6 liberada de las células productoras.⁽⁸⁸⁾

La adición de Ac anti-IL-6 a células de mieloma cultivadas da como resultado una fuerte inhibición del crecimiento celular. El empleo de estos anticuerpos o inhibidores naturales de IL-6 ha sido propuesto para el tratamiento de mielomas humanos.⁽¹⁴⁾

La regulación de la IL-6 es muy importante en el tratamiento de la artritis reumatoide. Se han realizado estudios con tenidap de sodio, compuesto que no está químicamente relacionado con ninguno de los AINES, obteniéndose una inhibición de citoquinas inflamatorias, en especial de IL-6 con la consiguiente reducción de proteína C reactiva sérica en pacientes con artritis reumatoide, mientras que con el uso de naproxeno, piroxicam y placebo no se obtienen mejoras de este tipo.^(100,101)

También se puede intentar modular la función de IL-6 mediante otras citoquinas, por ejemplo, la IL-4 recombinante inhibe marcadamente la producción de IL-6 por monocitos de sangre periférica humana estimulada por LPS in vitro. Cuando se añade a los cultivos LPS e IL-4 recombinante hay una dramática reducción en la producción de IL-6 en relación a los cultivos a los que se añade sólo LPS. Esta inhibición es dosis y tiempo dependiente. Los mecanismos de esta inhibición son desconocidos.

Otro modo de evitar la acción de IL-6 es mediante antagonistas de su receptor. El desarrollo de antagonistas de receptor de IL-6 se basa en la propiedad de unión de la IL-6 a IL-6R y al transductor gp 130, pues estos antagonistas eliminan la interacción con gp130, no jugando papel en la señal el complejo IL-6/IL-6R.^(102,103) Actualmente se están desarrollando anticuerpos monoclonales específicos para gp 130 humana, estos Ac anti-gp130 inhiben las funciones de IL-6.⁽¹⁰⁴⁾

Se han estudiado compuestos de vitamina K como inhibidores de la producción de IL-6. Estos compuestos tienen propiedades antiinflamatorias, lo que podría estar debido al menos en parte a la modulación de la síntesis de citoquinas pro-inflamatorias. Reddi y cols⁽¹⁰⁵⁾ realizaron un estudio sobre fibroblastos gingivales humanos para determinar si los análogos de vitamina K tenían alguna influencia en la producción de IL-6 ante la presencia de LPS, llegando a la conclusión de que tanto menadiona (K3) como menaquinona (K2) y filoquinona (K1) eran capaces de inhibir la producción de IL-6 por fibroblastos gingivales humanos.

Los glucocorticoides frenan el aumento de IL-6, así, el pretratamiento con metilprednisolona (30mg/kg) en 17 pacientes sometidos a cirugía cardíaca con circulación extracorpórea supuso un menor incremento de IL-6 y endotoxinas con respecto al grupo control. ⁽¹⁰⁶⁾

RESPUESTA DE LA IL-6 ANTE EL TRAUMA QUIRÚRGICO

Es mucho lo que se ha escrito sobre la IL-6 en relación a la cirugía, sabemos que una intervención quirúrgica es una forma de trauma programado que se diferencia del trauma accidental en el uso de una técnica reglada y de anestesia, con control de las funciones vitales, lo que tiende a reducir la magnitud de la respuesta metabólica. El proceso de reparación implica los sistemas neuroendocrino e inmunoinflamatorio a nivel local y sistémico. El efecto del trauma quirúrgico en el sistema inmune no se comprende completamente. La supresión inmune por el estrés quirúrgico induce un aumento de la incidencia de infección. ⁽¹⁰⁷⁾ En la respuesta inmune y la reacción inflamatoria que tiene lugar tras la lesión tisular juegan un papel clave como mediadores las citoquinas. Estas citoquinas actúan localmente en el lugar del trauma y posteriormente actúan sistémicamente tras entrar a la circulación. ⁽¹⁰⁸⁾ Los sucesos que conducen a citoquinemia por el trauma quirúrgico probablemente ocurren como sigue: Primero las células inmunocompetentes como macrófagos, monocitos y fibroblastos son activadas localmente en el campo operatorio por destrucción de células y tejidos para inducir la producción y secreción de citoquinas localmente que luego pasarán a sangre periférica. ^(107,109) La IL-6 además de ser activada mediante este mecanismo sufre una inducción indirecta mediada por otras citoquinas liberadas localmente sobre todo IL-1 y TNF. ^(110,111)

Como se comentó anteriormente la IL-6 está envuelta en muchas actividades biológicas como inducción de la respuesta de fase aguda, síntesis de inmunoglobulinas, activación de células T, acción pirogénica, inducción de la síntesis de ACTH y proliferación de plaquetas, es decir, la IL-6 es un importante mediador en la defensa del huésped tras el trauma. ^(112,113)

La respuesta de IL-6 en cirugía cardiocirculatoria ha sido estudiada por numerosos autores pues supone un trauma tisular severo en el que puede haberse dado con anterioridad un shock hemorrágico por un aneurisma roto o una lesión

severa por isquemia y reperfusión en la reparación de ese aneurisma. Este tipo de cirugía puede dar lugar a una activación excesiva, incontrolada de células inflamatorias y mediadores de la inflamación. Esta respuesta inflamatoria sistémica puede dar lugar a morbilidad y mortalidad. Aunque en esta respuesta participan citoquinas proinflamatorias, como IL-6, TNF- α e IL-8, y antiinflamatorias como IL-10, es la IL-6 la principal citoquina liberada tras cirugía cardíaca, siendo un marcador sensitivo y temprano del daño tisular, habiendo una correlación entre los niveles plasmáticos y el grado del trauma quirúrgico. Así Baigrie⁽²³⁾ estudió 6 pacientes sometidos a cirugía aórtica, en los que se detectó IL-6 a las 2 horas de la incisión, alcanzándose el pico entre las 4 y las 24 horas. La concentración cayó de forma brusca entre las 48 y 72 horas en 5 pacientes que tuvieron un curso postoperatorio normal, permaneciendo elevada en un paciente que desarrolló una severa septicemia de origen pulmonar, además la concentración de IL-6 en este caso fue mucho mayor que en los pacientes sin complicaciones postoperatorias (3 veces mayor) incluso antes de que se hiciera el diagnóstico de septicemia. Este aumento de IL-6 en pacientes con endotoxemia se debe a que este es un importante estímulo para la liberación de citoquinas.⁽¹¹⁴⁾ Si se demuestra que los niveles postoperatorios de IL-6 son más elevados en pacientes con complicaciones podría ser útil una medida rutinaria de la IL-6 como parámetro para la identificación de pacientes que necesitan una monitorización postoperatoria cuidadosa. En estos pacientes con complicaciones además de estar la concentración más elevada, la IL-6 está presente durante un periodo más prolongado.⁽²⁷⁾

En un estudio realizado por Fujiwara⁽¹¹⁵⁾ en el que se midió seriadamente los niveles séricos de IL-8, IL-6, IL-1 β y TNF en 20 pacientes sometidos a bypass cardiopulmonar se halló un aumento de IL-8 e IL-6, que empezaba inmediatamente tras soltar la aorta y volvía a los niveles basales 24 horas después de la cirugía. Hubo una correlación significativa entre el valor de IL-6 y la duración de la operación. En los tres pacientes que presentaron complicaciones postoperatorias estas citoquinas mostraron mayores concentraciones con picos más retrasados, esto sugiere que podrían jugar un importante papel en la respuesta inflamatoria que podría estar exagerada por una complicación.

Ya que citoquinas como IL-8 e IL-6 aumentan durante la cirugía cardíaca y causan disfunción cardíaca postoperatoria, es importante conocer los cambios que producen citoquinas supresoras como IL-10, IL-4 e IL-1Ra durante la cirugía

cardiaca. En un estudio realizado por Kawamura⁽¹¹⁶⁾ se observó que tanto IL-6 e IL-8 como IL-10 e IL-1Ra aumentan tras la cirugía, es decir, aumentan tanto las citoquinas proinflamatorias como las antiinflamatorias para mantener su balance durante la cirugía cardiaca.

Ciertos efectos adversos de la cirugía cardiaca, como la vasodilatación periférica pueden estar mediados por la liberación perioperatoria de IL-6. Ya que la IL-6 puede causar complicaciones postoperatorias se debería usar terapia anticitoquinas para combatir el incremento de IL-6 como mediador inflamatorio. Los corticoides pueden abolir la producción de esta citoquina y la vasodilatación. Esto se estudió en 25 pacientes sometidos a bypass coronario normotérmico que fueron divididos en dos grupos, 16 recibieron preoperatoriamente metilprednisolona (250 mg i.v.) y 9 no, constituyendo el grupo control. En los pacientes control la IL-6 estaba elevada en el postoperatorio y alcanzó el pico entre 3 y 6 horas tras la cirugía. En los pacientes que recibieron corticoides preoperatorios no se detectó IL-6 y tuvieron una presión arterial más alta y mayor resistencia vascular, lo que indica menor vasodilatación. De este modo con la administración de corticoides se mejoró el postoperatorio y aumentó la supervivencia.⁽¹¹⁷⁾

En un estudio similar sobre 19 pacientes sometidos a bypass cardiopulmonar se comparó un grupo de 10 pacientes a los que se les administró 1 gr de metilprednisolona i.v. antes del bypass y 4mg de dexametasona cada 6 horas durante las primeras 24 horas de recuperación, con otro grupo de 9 pacientes a los que no se les administró régimen de esteroides. En el grupo no esteroideo hubo una elevación significativa de IL-6 en relación al grupo esteroideo y los cambios predominantes ocurrieron 24 horas después de la operación. Los pacientes con esteroides abandonaron la unidad de cuidados intensivos un día antes y en general hubo un beneficio en la respuesta sistémica al bypass cardiopulmonar.⁽¹¹⁸⁾ En este sentido Tonnesen⁽²⁷⁾ afirma igualmente que en cirugía cardiaca el pretratamiento con metilprednisolona (30mg/kg) suprime el incremento de IL-6. Lo mismo ocurre en cirugía de pulmón.⁽¹¹⁹⁾

Además de intentar regular la producción de IL-6 con corticoides se están investigando otros preparados con menos efectos colaterales como el ibuprofeno u otros antiinflamatorios no esteroideos, habiendo una menor elevación de IL-6 cuando se administran estos antiinflamatorios, como se demuestra en el estudio realizado por

Chambrier,⁽¹²⁰⁾ en el que se estudió el efecto del tratamiento pre y postoperatorio con ibuprofeno en pacientes sometidos a colecistectomía: se administraron 500 mg de ibuprofeno en supositorios o placebo 12 y 2 horas antes de la cirugía y cada 8 horas hasta el tercer día postoperatorio. Los niveles de IL-6 aumentaron gradualmente tras la incisión de la piel y fueron significativamente menores en el grupo de ibuprofeno, lo que indica que el ibuprofeno puede ser útil en disminuir la respuesta de estrés en estos pacientes quirúrgicos. El pretratamiento con otro AINE como es el ulinastatin antes de realizar un bypass cardiopulmonar hace que el incremento de IL-6 sea mucho menor que en el grupo de pacientes no tratado con este fármaco, lo que indica que este antiinflamatorio puede producir protección miocárdial.⁽¹¹⁶⁾ Otra terapia antiIL-6 son las citoquinas antiinflamatorias como la IL-10, que suprime la síntesis de IL-6 por células T. Se ha probado en humanos y su administración es segura y sin efectos colaterales importantes, aunque su papel en la cirugía no ha sido aún clarificado.⁽²⁷⁾

Junto con la cirugía cardíaca, que quizás ha ocupado el mayor número de investigaciones con respecto a la IL-6, es la cirugía del aparato digestivo la que más propicia la liberación de IL-6, pues es un tipo de intervención en la que se ven implicadas endotoxinas, como por ejemplo en cirugía abdominal en la que la concentración de IL-6 aumenta significativamente en los casos de endotoxemia y se correlaciona con el pico de temperatura corporal.⁽¹²¹⁾ En otras cirugías con menor riesgo de endotoxemia como por ejemplo la cirugía plástica de reconstrucción de pecho, aunque el trauma quirúrgico es elevado hay un menor incremento de IL-6, pues no existe el estímulo adicional, que supone la endotoxemia.⁽¹¹⁰⁾

Nishimoto⁽¹²²⁾ midió los niveles séricos de IL-6 y proteínas de fase aguda en tres pacientes sometidos a cirugía por pólipos de vesícula biliar, coledocolitiasis y estadio temprano de cáncer de estómago, en todos ellos se observaron niveles detectables de IL-6 a las tres horas tras la cirugía, alcanzando el máximo a las 24 horas y bajando a las 48 horas. Por otro lado, la proteína C reactiva no podía ser detectada en las primeras 6 horas, incrementándose gradualmente durante las siguientes 48 horas antes de empezar a bajar. De estos resultados se deduce que el trauma quirúrgico induce la producción de IL-6, directa o indirectamente, lo que induce la producción de proteínas de fase aguda. Por tanto, la detección de IL-6 en suero puede ayudar a reconocer el estatus inflamatorio antes de que se produzca el aumento de proteína C reactiva.⁽¹²³⁾

Los cambios en la concentración de IL-6 tras la cirugía dependen en gran medida del tipo de intervención, así en un estudio sobre 38 pacientes sometidos a cirugía mayor toracoabdominal⁽¹⁰⁷⁾ se observó la mayor concentración en pacientes sometidos a esofagectomía, después pancreaticoduodenectomía, lobectomía del pulmón, gastrectomía y resección colorrectal, y la normalización de esta IL-6 sérica fue más prolongada en pacientes con mayores concentraciones. En todos los casos el pico se alcanzó en el primer día postoperatorio y fue 100 veces más elevado en el fluido torácico que en sangre periférica, lo que indica que esta citoquina es inducida y secretada en el campo operatorio y posteriormente entra a sangre periférica. En todos los casos hubo una correlación significativa entre el pico sérico de IL-6 y la duración de la operación y el volumen de sangre perdido, factores que definen el grado de trauma y dificultad quirúrgica. Se puede afirmar que el tiempo de intervención es un parámetro práctico de estrés quirúrgico, ya que la duración de la intervención influye en el grado de lesión tisular y en la liberación de IL-6⁽¹²³⁾ Por todo ello la IL-6 ha sido propuesta como marcador de la severidad de la lesión y como predictor de complicaciones mayores. El incremento de IL-6 es diferente en cirugía mayor y en cirugía menor. Así el aumento de IL-6 en plasma en la reparación de aneurisma aórtico abdominal se produce entre 1 y 3 horas después de la incisión y cae entre 48 y 72 horas después y el pico es mucho mayor que en la reparación de una hernia inguinal, que puede considerarse una intervención menor.⁽¹²⁴⁾

Se ha comprobado que durante las operaciones abdominales se activan los macrófagos peritoneales y se libera IL-6 al fluido peritoneal.⁽¹²⁵⁾ La duración de la operación y la pérdida de sangre son, como en otras cirugías, medidas clínicas del estrés de la operación. La liberación de IL-6 que se produce tras una intervención quirúrgica se ve aumentada si el paciente sometido a cirugía padece sepsis intraabdominal (apendicitis, peritonitis, perforación...) ya que los niveles preoperatorios ya se encuentran significativamente elevados. Otras interleuquinas no experimentaron esta variación, lo que nos indica de nuevo que la IL-6 es la que mejor se relaciona con la severidad del proceso inflamatorio.⁽¹²⁶⁾ En casos de pacientes sometidos a relaparotomía por infección intraabdominal severa se encontró relación entre la concentración de IL-6 y la muerte del paciente. Estos niveles estaban mucho más elevados en el exudado peritoneal que en el plasma, lo que indica que la peritonitis secundaria está asociada a una respuesta inflamatoria mediada por citoquinas que está compartimentalizada en la cavidad peritoneal e indica un

pronóstico adverso. Los niveles de citoquinas en el exudado de peritonitis pueden ser usados para determinar la severidad de la peritonitis y en el futuro para guiar la terapia local.⁽¹²⁷⁾ Otra cirugía en que la IL-6 es inducida con gran intensidad es la cirugía de colon, ya que es un procedimiento con gran implicación bacteriana.⁽¹²⁸⁾

Puesto que la IL-6 es un marcador del grado del trauma quirúrgico, la técnica quirúrgica empleada debe influir, en principio, en la cantidad de IL-6 liberada, en este sentido Ellström⁽¹²⁹⁾ comparó la cantidad de IL-6 liberada en 12 casos de histerectomía abdominal y en 12 casos de histerectomía laparoscópica. En ambos casos hubo una elevación de la concentración de IL-6, alcanzándose el pico a las 4 horas. Esto indica que el grado de trauma quirúrgico no difiere entre los dos métodos. En el momento de quitar el útero de la cavidad abdominal la IL-6 aumentó más del doble en el caso de la histerectomía laparoscópica pues el tiempo es mucho mayor que en la abdominal. Bellón en 1997⁽¹²³⁾ efectuó un estudio similar sobre los niveles de citoquinas en suero de pacientes sometidos a colecistectomía laparoscópica o colecistectomía abierta: *halló que las dos técnicas producen diferentes niveles de citoquinas, indicando diferencias en sus efectos en la respuesta inmune. Con la laparoscopia hay una recuperación más rápida, lo que sugiere que la respuesta endocrino-metabólica y particularmente la respuesta inmune que ocurre tras la agresión quirúrgica puede ser reducida usando una técnica laparoscópica. Es muy interesante el incremento que se observa en los niveles de IL-6: En el grupo de pacientes sometidos a cirugía abierta los niveles de IL-6 se incrementaron significativamente en las primeras 24 horas tras la cirugía y aunque disminuían, permanecían significativamente elevados 7 días después de la cirugía. Con laparoscopia los niveles aumentaron 24 horas después pero volvían a la normalidad a los 7 días. Comparativamente los niveles de IL-6 a las 24 horas eran mayores en el grupo de la cirugía abierta. Sin embargo no hubo diferencias en los niveles de IL-1 β , IL-10 y TNF- α entre ambos tipos de cirugía, aunque también se observó un aumento de estas citoquinas durante el postoperatorio.*

Los altos niveles de IL-6 observados 24 horas después de la cirugía demuestran una temprana activación de las células implicadas en la producción de estas citoquinas. El menor incremento de IL-6 en el grupo de laparoscopia sugiere que la producción de esta molécula está relacionada con el daño tisular.

En un estudio sobre 10 pacientes sometidos a cirugía de sustitución de cadera, se encontró que la concentración de IL-6 era mayor en la sangre de la herida que en sangre sistémica, pero menor que en la sangre de drenaje, incluso después de ser filtrada. En este sentido, no es buena la autotransfusión de esta sangre pues al tener activados varios mediadores de la inflamación (entre ellos IL-6) puede contribuir al desarrollo de disfunción orgánica.⁽¹³⁰⁾

En un estudio sobre pacientes con carcinoma, no se detectó IL-6 antes de la operación en ninguno de ellos, mientras que los niveles de esta citoquina se incrementaron marcadamente al final de la operación, disminuyendo después rápidamente, no alcanzándose los niveles normales hasta el quinto día. Otras citoquinas como TNF- α e IL-1 no fueron detectadas.⁽¹³¹⁾

Además de estudiarse la implicación de la IL-6 en los distintos procedimientos quirúrgicos, se ha valorado, en numerosos estudios, su relación con la anestesia general. Así, en investigación animal sobre cerdos se encontró que la concentración de IL-6 no cambió durante la anestesia sin comenzar la intervención (en este caso cirugía abdominal), pero se incrementó 5 veces tras la manipulación intestinal y 50 veces tras la administración de endotoxina, por lo que se puede afirmar que la anestesia prolongada no incrementa los niveles plasmáticos de IL-6, sino que es la intervención quirúrgica y que hay un aumento sustancial tras un mínimo aporte de endotoxinas.⁽¹³²⁾

En otro estudio realizado sobre ratones para determinar el efecto del tipo de anestesia en la respuesta de las citoquinas, se llegó a la conclusión de que la anestesia (tanto con halotane o combinación de halotane y espinal) no es capaz de inducir la producción de IL-6 sino que es la cirugía (en este caso laparotomía exploratoria) la que hace elevarse los niveles de IL-6 en suero, no se elevaron, sin embargo, ni TNF- α ni IL-1 (las otras citoquinas proinflamatorias), lo que nos vuelve a constatar que la IL-6 es el mejor marcador del estrés quirúrgico agudo.⁽¹³³⁾

Los hallazgos de un incremento en la concentración sérica o local de IL-6 en cualquier tipo de intervención quirúrgica, tras la incisión, apoyan la teoría de que la IL-6 tiene un importante y temprano papel en la respuesta inflamatoria.⁽²¹⁾ Como ha quedado reflejado en páginas anteriores ante diferentes tipos de cirugía hay una respuesta diferente de IL-6 y de otras citoquinas, por ejemplo, tras cirugía abdominal

sólo aumentan los niveles de IL-6, mientras que en cirugía cardíaca aumentan IL-6, IL-1 y TNF- α , pues los cambios inmunoinflamatorios tras cirugía cardíaca son generalmente más pronunciados que en otros tipos de cirugía mayor.

INTERLEUQUINA 7 (IL-7)

Factor soluble aislado de células del estroma de cultivos de médula ósea, con un peso molecular de 25 kDa que presenta la capacidad de inducir la proliferación de células pre-B.

La IL-7 humana y la del ratón muestran un 60 % de homología en su secuencia de aminoácidos.⁽³⁷⁾

Las fuentes más importantes son las células estromales de médula ósea, el timo y el bazo.⁽⁵⁹⁾

Actúa sobre las células pro-B y pre-B, induciendo su proliferación, pero no en las células B maduras. Actúa también sobre las células T, induciendo la proliferación de timocitos CD4-CD8-. En las células T maduras induce la producción de IL-2, así como la expresión de esta interleuquina, induciendo de este modo un estímulo proliferativo de forma indirecta.⁽³¹⁾ Es también un factor de activación de los macrófagos.⁽⁸⁾

INTERLEUQUINA-8 (IL-8)

Pertenece a una gran familia (más de 15 miembros) de citoquinas de bajo peso molecular (unos 8 kDa). Incluyen factor-4 plaquetario (platelet factor-4), tromboglobulina- β , factor estimulador de crecimiento de melanoma y proteína-1 quimiotáctica de monocito (monocyte chemotactic protein-1)⁽⁵⁹⁾ Se producen en los macrófagos y en las células endoteliales, e intervienen en la inflamación y en la migración celular, sobre todo la IL-8 propiamente dicha, que es un potente inductor de la quimiotaxis de neutrófilos y células T.^(8,56) Al ser una citoquina proinflamatoria anticuerpos específicos serían un medio de controlar enfermedades inflamatorias agudas y crónicas.⁽⁷³⁾

INTERLEUQUINA-9 (IL-9)

Es una glicoproteína de 20-30 kDa producida por células T activadas, principalmente células T CD4+. Además está producida en lesiones de la enfermedad de Hodgkin.

Es un factor de crecimiento para líneas de células T y potencia la producción de Ig M, IgG e IgE por células B coestimuladas con IL-4. Además es un cofactor en el crecimiento de colonias eritroides en la médula ósea. Muchas de sus acciones in vitro se solapan con IL-3 y GM-CSF. ^(37,75)

INTERLEUQUINA-10 (IL-10)

Conocida también como factor inhibidor de la síntesis de citoquinas, inhibe la producción de IFN γ , la presentación del antígeno y la producción de IL-1, IL-6 y TNF α en los macrófagos ; también desempeña un papel en la regulación de la IgE. ^(8,56)

Esta citoquina está producida por varios tipos de células incluyendo linfocitos T y células monocito/macrófago. ⁽⁷³⁾

Las acciones inmunomoduladoras de la IL-10 han sido investigadas en varios modelos animales. Por ejemplo ratones tratados con dosis letales de LPS fueron protegidos con la preadministración o coadministración de IL-10 recombinante de ratón. Así, la IL-10 puede tener importantes usos terapéuticos en el tratamiento de enfermedades inflamatorias agudas y crónicas y en desórdenes autoinmunes. ⁽⁷⁵⁾

En un estudio realizado sobre voluntarios sanos, a los que se les administró dosis intravenosas de IL-10 recombinante humana (rhIL-10) : 0,1 ; 0,5 ; 1 ; 2,5 ; 5 ; 10 ; 25 ; 50 y 100 $\mu\text{g/kg}$, se vio que los efectos adversos eran un síndrome como la gripe caracterizado por fiebre con escalofríos , dolor de cabeza y mialgias en la dosis más alta. Los efectos relacionados con la dosis de rhIL-10 inducían incremento transitorio de neutrófilos circulantes y monocitos y disminución de linfocitos. RhIL-10 suprimía marcadamente de una forma tiempo y dosis dependiente la síntesis de citoquinas inflamatorias IL-1 β y TNF α . ⁽¹³⁴⁾

INTERLEUQUINA-11 (IL-11)

Es un péptido de 19-23 kDa derivado principalmente de células estromales de la médula ósea. La IL-11 comparte algunas funciones con IL-6, como la capacidad de inducir proteínas de fase aguda por hepatocitos y de estimular la proliferación de plasmocitomas. Sus efectos principales son en la hematopoyesis y en combinación con la IL-3 promueve el crecimiento de células precursoras multilíneas. Así, la administración de IL-11 a ratones irradiados acelera la recuperación de la función medular. Además actúa en un estadio de diferenciación posterior para promover el crecimiento de megacariocitos. Por último, la IL-11 inhibe la diferenciación de adipocitos inhibiendo la proteína lipasa.^(37,75)

INTERLEUQUINA-12 (IL-12)

A la IL-12 se le conoce también como factor de maduración de linfocitos citotóxico (cytotoxic lymphocyte maturation factor -CLMF-) y factor estimulador de células natural killer (natural killer stimulating factor -NKSF-).⁽⁵⁶⁾

Su peso molecular es de 75 kDa, es producida por macrófagos y su principal función es promover la proliferación de células NK y aumentar en gran medida la citotoxicidad de dichas células.^(37,59)

Está producida sobre todo por células presentadoras de antígeno, como macrófagos y células B, más que por células T y la forman dos cadenas cuya coexpresión es necesaria para tener actividad biológica. Los inductores más eficaces para la producción de IL-12 son las bacterias, los productos bacterianos y los parásitos intracelulares.^(73,75)

INTERLEUQUINA-13 (IL-13)

Es una glicoproteína de 9 a 17 kDa producida principalmente por células T. Comparte entre un 20% y un 35% de homología de la secuencia de aminoácidos con la IL-4 y muchas de las características funcionales de esta última.⁽⁷³⁾

Al igual que la IL-4 la IL-13 coestimula la proliferación de células B y secreción de Ig-E (por sus efectos en producción de Ig-E puede ser una citoquina

importante en enfermedades alérgicas). La IL-13 tiene efectos antiinflamatorios en los macrófagos regulando negativamente la producción de IL-1, TNF- α e IL-8.^(35,75)

INTERLEUQUINA-14 (IL-14)

Aumenta la proliferación de células B activadas y estimula la síntesis de inmunoglobulinas.⁽³⁵⁾

INTERLEUQUINA-15 (IL-15)

La IL-15 comparte muchas de sus propiedades con IL-2 incluyendo la estimulación de linfocitos T. Está producida principalmente por células epiteliales y monocitos, pero también se encuentra en una amplia variedad de células.⁽³⁵⁾

INTERLEUQUINA-16 (IL-16)

La IL-16 se conocía inicialmente como factor quimioatrayente de linfocitos (lymphocyte chemoattractant factor -LCF-) por su primera función identificada.

Es un factor quimiotáctico y activador para monocitos CD4+ y uno de los factores quimiotácticos más potentes para eosinófilos.

Son fuentes de IL-16 las células T, células epiteliales bronquiales y eosinófilos.

Esta citoquina ha sido identificada como temprano factor quimioatrayente y de crecimiento en el lavado broncoalveolar de asmáticos y en el lavado broncoalveolar de pacientes con sarcoidosis y en el fluido de las ampollas de pacientes con penfigoide bulloso, enfermedades asociadas con infiltración en órganos de células T CD4+.⁽¹³⁵⁾

INTERLEUQUINA-17 (IL-17)

Es una proteína cuyos receptores están expresados por una amplia variedad de células. Estimula las células T y actúa de una forma proinflamatoria y aumenta la expresión de IL-6 e IL-8.⁽³⁵⁾

AGENTES CITOTÓXICOS.

FACTOR DE NECROSIS TUMORAL (TUMOR NECROSIS FACTOR-TNF-)

Es una proteína secretada por monocitos y macrófagos activados, con un peso molecular de 17 kDa que está codificada por un gen situado en el cromosoma 6 humano. La secuencia de aminoácidos del TNF humano presenta un 80 % de homología con el del ratón.⁽⁷⁵⁾

Se han encontrado receptores para TNF en fibroblastos, células endoteliales, adipocitos, miocitos, no poseyendo receptores las plaquetas, los eritrocitos y los timocitos. El número de receptores celulares no es indicativo del grado de la respuesta celular a la acción de éste. Así, hay células con un número elevado de receptores que son insensibles a la acción de esta sustancia.⁽⁷³⁾

Sus acciones son diversas, dependiendo del tipo celular en el que actúa. En las células tumorales ejerce una actividad citotóxica, la cual está aumentada si previamente estas células son tratadas con ciclohexamida. Son sensibles a estos efectos las células del carcinoma de mama, ovario, colon y de los melanomas.

En las células normales ejerce un efecto estimulador. Así, estimula el crecimiento de fibroblastos, induce a estos y a las células endoteliales a producir GM-CSF, interviniendo por tanto en la granulopoyesis, y aumenta también en estas células la expresión de antígenos de clase I.

Induce la liberación de IL-1 por células endoteliales y estimula en los fibroblastos y en las células sinoviales la producción de PGE₂ y collagenasa, así como la reabsorción ósea. También induce la liberación de IL-1 β en polimorfonucleares, lo que se ha demostrado en estudios de Maruca et al ⁽⁵¹⁾ Además, ambas, IL-1 y TNF- α , actúan de una manera autocrina en los macrófagos para estimular su propia transcripción, así como la producción de la otra.⁽⁴⁵⁾

Estimula la función de los neutrófilos maduros, aumentando la adherencia de éstos a las células endoteliales y la fagocitosis.

Se ha demostrado que posee una estructura idéntica a la caquectina, la cual inhibe la síntesis de lipoproteinlipasa de los adipocitos y es responsable de la caquexia en las enfermedades infecciosas crónicas. Interviene en la reabsorción ósea y cartilaginosa.^(74,136)

El IFN por sí solo puede estimular la secreción de TNF por los macrófagos, y en el caso de que éstos estén en fase de estimulación, aumentar su producción.⁽³¹⁾

IL-1 y TNF- α son normalmente sintetizadas y secretadas simultáneamente aunque la producción de estas dos proteínas parece estar regulada independientemente y controlada por diferentes mecanismos. TNF- α se une a un receptor separado en las células diana, pero comparte muchas actividades biológicas con IL-1.⁽⁴⁵⁾

El principal papel patológico del TNF- α es ser mediador en el shock séptico. TNF, al igual que la IL-1, está envuelto en la elevación de la temperatura corporal, cambios hemodinámicos (activación de la coagulación sanguínea) y metabólicos y en la producción de una serie de proteínas de fase aguda en la inflamación y estado de shock. En altas concentraciones, TNF induce hipotensión y daño tisular. También induce la adhesión de neutrófilos a la superficie de la célula endotelial.⁽¹¹⁰⁾ Además, resultados de experimentos in vivo han demostrado que esta citoquina no participa sólo en el sistema inmune sino que también tiene una estrecha relación con el sistema neuroendocrino y el metabolismo. Esto sugiere que es un mediador muy importante en la inflamación.⁽²²⁾ En diversos estudios se ha comprobado que produce hiperalgesia en ratas de una forma dosis-dependiente.⁽¹³⁷⁾

El TNF- α participa en la fisiopatología de la sinovitis experimental, pero su papel es secundario a la IL-1. La inyección intrarticular de TNF- α en las rodillas de conejo induce una menor respuesta inflamatoria que la IL-1 β . La inyección de TNF- α no conduce a una pérdida de proteoglicanos del cartilago como se observa con la IL-1. Por otro lado la inyección de TNF- α e IL-1 produce una mayor respuesta inflamatoria que la observada con cualquiera de ellas por separado. Así, el TNF- α puede aumentar el potencial de daño tisular de la IL-1 en sinovitis experimental.

TNF- α está también presente en los fluidos sinoviales reumatoides. Se ha observado que la proteína TNF- α puede ser detectada en más del 50% de los fluidos

sinoviales reumatoides, particularmente en aquellos pacientes con enfermedad activa. La localización de TNF- α es principalmente en las células de la línea sinovial y en macrófagos intersticiales.

Se ha encontrado un inhibidor específico de TNF- α en la orina de pacientes febriles y en sobrenadantes de células cultivadas de fluidos sinoviales reumatoides. Este inhibidor de TNF- α es una proteína de 31-33kDa. Análogo al inhibidor de IL-1, el inhibidor de TNF- α muestra especificidad por TNF- α , no tiene efectos en la estimulación de células de IL-1 α o IL-1 β y muestra sólo un ligero efecto inhibitor para TNF- β . Este inhibidor previene la producción de PGE₂ inducida por TNF- α . Al contrario que el inhibidor de IL-1, el inhibidor de TNF- α no se une al receptor de TNF- α , sino a la molécula TNF- α en sí misma.⁽²⁵⁾

Recientes estudios han demostrado que los AINES aumentan la producción de TNF, que como hemos dicho anteriormente, es el mediador principal del shock y fracaso de órganos tanto en humanos como en modelos animales de shock séptico. Por ejemplo los niveles de TNF en sangre fueron entre 4 y 10 veces mayores en voluntarios humanos pretratados con Ibuprofeno y después tratados con LPS que en voluntarios a los que sólo se les administró el lipopolisacárido. En respuesta a la infección bacteriana, las células huésped, principalmente los monocitos, producen TNF, que aumenta la conversión de ácido araquidónico a PGE₂ que actúa directamente en el hipotálamo para incrementar la temperatura basal del cuerpo. Los AINES evitan la conversión de ácido araquidónico a PGE₂ y de este modo se inhibe el desarrollo de fiebre. La PGE₂ es un inhibidor, mediante feedback, de la síntesis de TNF por monocitos, y en su ausencia hay una síntesis no regulada de TNF. Este mecanismo explica los altos niveles de TNF en el suero de voluntarios que se trataron con ibuprofeno y después con lipopolisacáridos. Así los AINES inhiben los mecanismos de defensa del huésped mediados por leucocitos, suprimen la fiebre y aumentan la producción de TNF por las células del huésped. El efecto neto es que enmascaran los signos clínicos de infección a expensas de una sobreproducción de TNF. Los AINES pueden de este modo retrasar un diagnóstico y tratamiento adecuado, facilitar la diseminación local de la infección y predisponer a los pacientes al shock.⁽¹³⁸⁾

Se ha usado TNF - α para la terapia anticáncer. Los principales efectos tóxicos de esta citoquina son: Fiebre, escalofríos, dolor de cabeza y fatiga que aumentan en

severidad con la dosis. La dosis máxima tolerada es $200 \mu\text{g}/\text{m}^2$, tras esta dosis el nivel de $\text{TNF-}\alpha$ en la circulación es aproximadamente de $10 \text{ ng}/\text{ml}$. Los granulocitos circulantes disminuyen, presumiblemente por la inducción de moléculas de adhesión.⁽¹³⁹⁾ Una inyección única de $\text{TNF-}\alpha$ ($50 \mu\text{g}/\text{m}^2$) en humanos sanos activa la vía extrínseca de la coagulación, pero no disminuye el número de plaquetas.

LINFOTOXINA

En algunas ocasiones se denomina factor de necrosis tumoral- β ($\text{TNF-}\beta$) y es una citoquina de entre 21 y 24 kDa que se une a los mismos receptores que $\text{TNF-}\alpha$ y por tanto comparte muchas de sus actividades biológicas. La linfotóxina activa los PMN e incrementa la adhesión de los leucocitos al endotelio vascular. En contraste con el TNF, que está producido principalmente por fagocitos mononucleares, la linfotóxina está producida por linfocitos T activados. Esta citoquina probablemente sólo tiene acción local.^(56,59)

INTERFERONES. (INF)

Son sustancias proteicas, descubiertas en 1957, producidas por células infectadas por virus, cuya primera función conocida fue que inhibían la replicación viral. Posteriormente se observó que tenían también efectos en el sistema inmunológico (en células T, B y NK).⁽⁵⁹⁾

Dependiendo de las células por las que son principalmente secretados se dividen en tres tipos: Interferón alfa ($\text{IFN-}\alpha$), secretado por leucocitos, interferón beta ($\text{IFN-}\beta$), secretado por fibroblastos e interferón gamma ($\text{IFN-}\gamma$), secretado por linfocitos activados. Todos ellos utilizan los mismos receptores de superficie y consecuentemente tienen actividades antivirales, antiproliferativas e inmunomoduladoras similares.⁽⁷⁶⁾

Los dos primeros pueden ser producidos por prácticamente cualquier tipo de célula infectada por virus, mientras que $\text{IFN-}\gamma$ es producido por linfocitos T estimulados con mitógeno o antígeno, siendo esta estimulación, a diferencia de lo que ocurre con otras citoquinas, antígeno específica.⁽⁷³⁾

Al IFN- β se le denomina también IFN- β 1 para evitar confusiones con IFN- β 2 (IL-6).

Según su antigenicidad se han dividido en : Tipo I (IFN- α e IFN- β) y tipo II constituido por IFN- γ . El tipo I es inducido por infecciones virales y puede ser secretado por cualquier tipo celular (también por linfocitos), mientras que la producción de IFN- γ por parte de los linfocitos es dependiente de la IL-1 y la IL-2.⁽⁷⁵⁾

Los tres tipos de interferón, una vez secretados, se unen a receptores celulares, existiendo un mismo receptor para IFN- α e IFN- β y distinto para IFN- γ .

Los tres tipos de IFN ejercen funciones comunes, si bien las dosis necesarias para ejercer una función determinada son mucho menores para IFN- γ .

Función antiviral. Las células tratadas con IFN son refractarias a las infecciones víricas debido a la activación de enzimas que inhiben la síntesis de proteínas virales.

Inhibición de la proliferación celular. Suprimiendo el crecimiento tanto de las células normales como de las neoplásicas.

Aumento de la actividad antimicrobiana y tumoricida de los monocitos y macrófagos. Regulando la síntesis de determinadas enzimas proteolíticas de estas células. Tiene efectos protectores contra bacterias, hongos y parásitos. La población de macrófagos activados por IFN- γ incluye monocitos circulantes, macrófagos alveolares, macrófagos peritoneales, etc.⁽⁷⁴⁾

Activación de células NK. Hay evidencias de que IFN- γ interviene en la inducción de la actividad de las células LAK (lymphokine-activated-killer) conjuntamente con otras linfoquinas (IL-2).⁽⁵⁹⁾

Produce un aumento de la citotoxicidad de las células T y reduce la expresión de antígenos virales en la superficie de las células.⁽³¹⁾

Se pueden detectar cantidades circulantes de IFN- γ en el suero de pacientes con malaria y enfermedades autoinmunes, así como en el fluido cerebroespinal de

pacientes con meningitis o esclerosis múltiple. También se puede encontrar en tejidos lesionados como herpes simple o psoriasis, en los pulmones de pacientes con tuberculosis y el fluido sinovial de pacientes con artritis reumatoide.⁽⁷⁴⁾

La inhibición del crecimiento celular por la acción de IFN- α o IFN- β es clínicamente útil en ciertos cánceres, como el de células renales.⁽⁸⁾

La tabla 7 resume las actividades biológicas de los interferones según el tipo⁽³⁷⁾

Tabla 7: Funciones de IFN

	IFN- α	IFN- β	IFN- γ
Aumenta o inhibe la diferenciación celular	+	-	+
Activa a los macrófagos	-	-	+
Aumenta la actividad de células NK	+	+	+
Aumenta la proliferación y maduración de cél. B	-	-	+
Incrementa la secreción de otras citoquinas	-	-	+
Protege las células contra virus	+	+	+
Contrarresta los efectos de IL-4 en células B	-	-	+

FACTORES ESTIMULADORES DE COLONIA

Los factores estimuladores de colonia son un grupo heterogeneo de citoquinas que actúan en células progenitoras de la médula ósea para inducir el crecimiento de colonias hematopoyéticas. Por otro lado, los factores estimuladores de colonia pueden también afectar a células maduras.⁽¹⁴⁰⁾

El factor estimulador de colonia de granulocito-macrófago (granulocyte-macrophage colony stimulating factor -GM-CSF-) es un factor de crecimiento muy importante. Es una glicoproteína de 22 kDa que puede ser sintetizada por macrófagos, fibroblastos, células endoteliales y linfocitos activados.⁽¹⁴¹⁾ Esta citoquina fue identificada primero por su capacidad de inducir células progenitoras hematopoyéticas a proliferar y diferenciarse a granulocitos y macrófagos. La clonación del gen de GM-CSF, permitió la producción a gran escala de esta citoquina y permitió más investigaciones sobre sus funciones in vitro e in vivo. Se ha visto que GM-CSF es más que una molécula inductora de crecimiento hematopoyético, puesto

que afecta también a multitud de funciones de granulocitos maduros, monocitos y algunas células mesenquimales.^(37,141)

La producción de GM-CSF puede ser estimulada por IL-1, TNF e IL-6. Por otro lado, GM-CSF estimula la producción de IL-1 y activa neutrófilos.⁽⁷⁵⁾

La estimulación de la hematopoyesis y la amplificación de los mecanismos de defensa tras la activación de las células T podría envolver no sólo a los monocitos, sino también a los PMN, un tipo de células que antes se creía que era inactiva en estos aspectos. De hecho, los PMN responden a GM-CSF disminuyendo la actividad migratoria, aumentando la fagocitosis y la citotoxicidad celular anticuerpo-dependiente^(44,141)

Se busca la utilidad clínica de esta citoquina para promover la mieloproliferación en SIDA, trasplante de médula ósea y sepsis. Ya se está ensayando con éxito sobre todo en pacientes con neutropenia tras la quimioterapia en cáncer, el problema es que produce toxicidad del tipo de fiebre, mialgias y perjuicio renal y hepático.^(73,74)

Otro de estos factores es el factor estimulador de colonia monocito-macrófago (monocyte-macrophage colony stimulating factor -M-CSF-), denominado también factor-1 estimulador de colonia. Tiene un peso molecular de 40 kDa y procede de los macrófagos y monocitos, células endoteliales y fibroblastos. Actúa principalmente sobre las células progenitoras de médula ósea que se diferenciarán al linaje macrófago-monocito.⁽⁵⁹⁾ Otra función muy importante es que aumenta la actividad tumoricida de monocitos y macrófagos, asimismo aumenta la actividad antimicrobiana y antiviral de estas mismas células.⁽³⁷⁾

El factor estimulador de colonia de granulocito (Granulocyte colony-stimulating factor -G-CSF-) es una glicoproteína de 19 kDa que induce la proliferación de células progenitoras de médula ósea destinadas a ser granulocitos. Está producida en tejidos periféricos en los lugares de reacción inflamatoria por macrófagos, células T, células vasculares endoteliales y fibroblastos.⁽³⁷⁾

G-CSF es efectivo en el tratamiento de la neutropenia cíclica, una enfermedad caracterizada por oscilaciones periódicas en el número de neutrófilos y monocitos.⁽⁵⁹⁾

FACTORES DE CRECIMIENTO

Se trata del **Factor de crecimiento derivado de plaquetas** (platelet derived growth factor-**PDGF**-) y **factor de crecimiento de fibroblastos** (fibroblastes growth factor -**FGF**-). Estos dos factores están presentes en fluidos sinoviales de formas de artritis no inflamatorias y PDGF se ha visto en fluidos sinoviales reumatoides. Ambos pueden ser producidos por macrófagos y ellos pueden estimular la síntesis de DNA y proliferación de fibroblastos sinoviales humanos, sin inducir la producción de PGE₂.

Los factores de crecimiento, particularmente PDGF pueden ser responsables del crecimiento agresivo y proliferación de fibroblastos en la articulación reumatoide humana. ⁽²⁵⁾ Además de esta función proinflamatoria, participa en la curación de heridas y otros procesos reparativos. ⁽⁷⁶⁾

El **factor de crecimiento transformante** (transforming growth factor - **TGFβ**-) es una citoquina de 25 kDa que está producida por varios tipos de células : Plaquetas, células óseas, macrófagos, linfocitos y fibroblastos sinoviales. ⁽⁵⁶⁾

Participa en el proceso inflamatorio, tanto en la iniciación como en la resolución de la inflamación. Es quimiotáctico para células T, neutrófilos y monocitos y puede inducir la producción de citoquinas proinflamatorias. La inyección local de TGFβ a los espacios articulares produce inflamación y proliferación sinovial. Que tenga efecto inflamatorio o antiinflamatorio depende del estado de diferenciación de la célula, por ejemplo, estimula la liberación de TNF-α e IL-1 de monocitos no estimulados pero inhibe su liberación de monocitos estimulados con lipopolisacáridos. ^(73,75)

3.3. CITOQUINAS Y PATOLOGÍA

Todas las citoquinas antes mencionadas juegan un papel fundamental en el mantenimiento de los mecanismos homeostáticos que se necesitan para el bienestar del huésped, pero un desequilibrio en la producción y acción de citoquinas y/o sus receptores y elementos de respuesta celular, perjudicará los procesos homeostáticos y tendrá consecuencias patológicas. De este modo, las citoquinas pueden ser vistas como armas de doble filo, beneficiando al huésped cuando su producción y acción

están reguladas, pero constituyendo una amenaza para el huésped cuando no lo están. Tal desequilibrio puede tener una profunda influencia en la inflamación aguda y crónica y puede contribuir a la patogénesis de enfermedades relacionadas con la angiogénesis, desórdenes fibróticos, así como a la patogénesis de enfermedades autoinmunes como artritis reumatoide y el desarrollo de tumores malignos.⁽³³⁾

Vamos a repasar ciertos procesos patológicos en los que intervienen las citoquinas, sobre todo tres de las más importantes: IL-1, IL-6 y TNF- α , que han sido denominadas la triada inflamatoria pues se encuentran elevadas en varias enfermedades inflamatorias crónicas como artritis reumatoide, esclerosis múltiple y enfermedad inflamatoria de Bowel.⁽³⁷⁾ Esta patogenicidad de las citoquinas se ha demostrado por los siguientes datos: Se detectan en el lugar de estas patologías mediante bioensayo, radioinmunoanálisis (RIA) o inmunoensayo ligado a enzima (ELISA), se pueden reproducir respuestas patológicas específicas tras su administración local o sistémica y se puede lograr la supresión de la respuesta patológica por antagonistas.⁽¹³⁵⁾

EFFECTOS PROINFLAMATORIOS, CATABÓLICOS Y PROCOAGULANTES.

TNF- α e IL-1 β ejercen efectos inflamatorios induciendo la expresión de moléculas de adhesión que reclutan leucocitos e induciendo la producción de prostaglandinas y otros mediadores de la inflamación. Los efectos catabólicos los ejercen induciendo la producción de metaloproteinasas neutrales y activadores de plasminógeno. Por último, los efectos procoagulantes los ejercen induciendo a las células epiteliales a producir tromboplastina a la vez que regulan hacia abajo la formación de activadores del plasminógeno y trombomodulina.⁽¹³⁹⁾

TNF- α e IL-1 inducen la producción o expresión de moléculas de adhesión por células endoteliales, incrementando el reclutamiento de leucocitos en los lugares de infección microbiana o inflamación. En cuanto a la inducción de la síntesis de prostaglandinas (importantes mediadores de la inflamación y la patogénesis del shock séptico) TNF- α e IL-1 β inducen la síntesis de prostaglandinas en fibroblastos de la sinovial reumatoide y tejido periodontal. IL-1 α e IL-1 β aumentan la liberación endógena de ácido araquidónico en células diana.⁽¹⁴²⁾

Hay dos genes que codifican la ciclo-oxigenasa llamados Cox-1 y Cox-2 que han sido clonados. El gen de Cox-1 está expresado ubicuamente, in vivo e in vitro, mientras que el gen de Cox-2 está expresado en niveles muy bajos en tejidos normales in vivo. La IL-1 induce rápidamente la expresión del gen Cox-2 en células endoteliales cultivadas, con expresión de la isoenzima Cox-2 y producción de prostaciclina. En monocitos no estimulados, la enzima constitutiva es Cox-1. La estimulación por LPS no tiene efectos en la expresión del gen Cox-1, pero induce rápidamente un alto nivel de expresión del gen Cox-2. La síntesis de Cox-2 está incrementado por IL-1 β en tejidos sinoviales reumatoides, sin embargo, en presencia de dexametasona no se incrementa. Por tanto, uno de los efectos proinflamatorios de IL-1 β es la inducción de la expresión del gen Cox-2, y uno de los efectos antiinflamatorios de los glucocorticoides es la supresión de la formación de Cox-2. (139)

Las respuestas inflamatorias están asociadas con la degradación de cartílago y hueso. En artritis reumatoide hay una erosión del cartílago articular y del hueso con una progresiva destrucción de la articulación. (139,143)

En la enfermedad periodontal la reabsorción del hueso alveolar, con la consiguiente pérdida del diente es el principal problema clínico. TNF- α e IL-1 β inducen en las células del tejido conectivo la producción de metaloproteinasas neutrales y colagenasas que degradan la matriz de proteoglicanos y el colágeno intersticial en cartílago y hueso. La IL-6 estimula la producción por hepatocitos de proteína C reactiva y otras proteínas de fase aguda, los niveles de las cuales están correlacionados positivamente con la severidad de la artritis reumatoide. Esta citoquina actúa sinérgicamente con la IL-1 para aumentar la erosión del hueso alveolar en la enfermedad periodontal. TNF- α , IL-1 β o IL-6 añadidos a cultivos de huesos largos fetales de rata aumentan el catabolismo y se observa una liberación al medio de calcio y fragmentos de proteoglicanos y colágeno. Estas citoquinas tienen efectos aditivos en la reabsorción ósea. Por tanto las tres citoquinas contribuyen a la erosión ósea en artritis reumatoide y enfermedad periodontal y su inhibición con drogas tendría utilidad clínica. Las prostaglandinas son co-mediadores del catabolismo óseo inducido por TNF- α , IL-1 β e IL-6. Los inhibidores de Cox suprimen la erosión ósea inducida por IL-1 en cultivos, el más potente inhibidor de degradación ósea identificado hasta ahora es ketorolaco, que se puede usar como enjuague bucal para prevenir la erosión ósea alveolar en la enfermedad periodontal.

Los mecanismos mediante los cuales los Inhibidores de Cox previenen la reabsorción ósea inducida por IL-1 no se entienden completamente.⁽¹³⁹⁾

TNF- α actúa sobre células endoteliales para ejercer un efecto procoagulante neto incrementando la expresión en las células endoteliales de factor tisular, que es un potente procoagulante que inicia la vía extrínseca de la coagulación sanguínea. Además, TNF- α suprime la liberación de activador del plasminógeno e induce la secreción de inhibidor de activador del plasminógeno tipo I. La infusión de altas dosis de TNF- α produce trombosis microvascular y una única inyección de TNF- α en voluntarios sanos produce una rápida activación de la vía común de la coagulación, probablemente a través de la ruta extrínseca. Este efecto de TNF- α podría tener un importante papel en la patogénesis de la coagulación intravascular diseminada en septicemia.⁽¹³⁹⁾

Tabla 8: Algunos procesos patológicos y citoquinas implicadas⁽³⁷⁾

IL-1 β	Leucemia aguda mielógena
IL-2 IFN- γ	Lepra de forma tuberculoide
IL-2	Leucemias de células T
IL-4 IL-5 IL-10	Lepra de forma multibacilar
IL-5	Angioedema episódico y eosinofilia
IL-6	Mieloma múltiple
IL-9	Linfoma de Hodgkin
TNF	Shock endotóxico Caquexia asociada al cáncer y enfermedades infecciosas Malaria cerebral

3.4. MODULACIÓN TERAPÉUTICA DE CITOQUINAS.

Como hemos visto las citoquinas juegan un papel fundamental en la patogénesis de muchas enfermedades, sobre todo inflamatorias. Pese al pleiotropismo y redundancia de las citoquinas, existen funciones para las que es claramente dominante una de ellas, por ello se intenta regular la producción de ciertas citoquinas o bloquear sus efectos, (todo ello sin dañar la red inmunorreguladora normal) lo cual se puede conseguir a varios niveles.

Un primer nivel es la *inmunosupresión*:

-Los **glucocorticoides** tienen un impacto directo en la proliferación celular e inhiben la producción de citoquinas. Se cree que los glucocorticoides bloquean primariamente IL-1 e IL-6 y a través de este bloqueo se inhibe también IL-2, IL-3, TNF, IL-7 etc. ^(144,145,146) Son particularmente susceptibles a los corticoides las células T y los macrófagos, éstos, bajo su acción disminuyen la producción de IL-6, TNF- α , leucotrienos, prostaglandinas, elastasa y colagenasa. ⁽²⁸⁾

-Azathioprine y ciclofosfamida inhiben la división celular y disminuyen la producción de citoquinas.

-Anticuerpos. Se han aislado en individuos normales y en pacientes con desórdenes inflamatorios agudos auto-anticuerpos contra IL-1, TNF- α , IFN γ - e IL-6. Se han sintetizado de forma artificial anticuerpos contra citoquinas y receptores de citoquinas. ⁽¹⁴⁷⁾ El problema de estos anticuerpos es que no pueden ser administrados oralmente y que su manufactura es cara. Se ha demostrado que el shock séptico experimental puede ser tratado neutralizando la IL-1, TNF- α e IL-6 mediante anticuerpos, esto tiene una gran relevancia clínica. Del mismo modo muestran actividad terapéutica los Ac anti IL-5 en la eosinofilia inducida por helmintos, Ac anti IL-3 en malaria cerebral, etc. ^(30,148,149,150)

-Ciclosporina. Es un potente agente inmunosupresor que media su actividad antilinfocítica mediante una fuerte acción inhibidora en la producción de citoquinas por células T. Sobre todo inhibe la producción de IL-2, ⁽³³⁾ pero también regula la presencia de IL-6 en la encía. ⁽¹⁵¹⁾

Otro nivel es el *bloqueo de la transducción de señal*:

Cuando TNF se une a su receptor, activa múltiples vías de señal que pueden ser manipuladas por inhibidores enzimáticos específicos. Por ejemplo, la pentoxifilina (usada para reducir la viscosidad de la sangre) inhibe la producción de TNF in vitro.

El tercer nivel de regulación son los *receptores de citoquinas y los antagonistas de receptor*:

-Anticuerpos contra receptor.

-Proteínas de unión solubles que compiten con el receptor unido a membrana.

Ya hemos comentado un inhibidor natural de IL-1 que es el antagonista de receptor (IL-1Ra). Este antagonista ya se ha sintetizado y se encuentra disponible para su uso clínico, sobre todo en investigación, ha sido administrado a pacientes con shock séptico, artritis reumatoide, enfermedad inflamatoria intestinal y asma. Sin embargo se necesitan unas 100 veces de exceso de este antagonista para inhibir un 50% de la respuesta inducida por IL-1. ⁽³⁵⁾ Aunque la IL-1 comparte muchas actividades con IL-6 y TNF- α por lo que sería razonable suponer que antagonizar una sola citoquina no tendría beneficios terapéuticos, se ha visto que la inhibición de una sola citoquina es suficiente para obtener beneficios importantes. ^(18,147)

Otro nivel de modulación terapéutica es el uso de *citoquinas* :

Las citoquinas pueden ser usadas para reconstituir un sistema inmune que ha fallado o reclutar células que se necesitan en una inmunodeficiencia temporal como puede ser la que se deriva de una terapia citotóxica para el tratamiento de tumores o trasplantes de médula ósea. ⁽³⁷⁾ En este sentido se están usando actualmente citoquinas recombinantes, sobre todo aquellas citoquinas que participan en la hematopoyesis (como GM-CSF) que tienen un potencial clínico considerable en la regeneración de células mieloides tras tratamiento citotóxico, trasplante de médula ósea, anemia aplásica, agranulocitosis, disfunción neutrófila congénita o adquirida e infecciones. Varias citoquinas fueron aprobadas en su día por la FDA (Food and Drug Administration) para su uso en humanos, como IFN- α (leucemia mieloide crónica, sarcoma de Kaposi, condiloma acuminado, Hepatitis C y B crónicas), IFN- γ (enfermedad crónica granulomatosa), G-CSF (pacientes que reciben quimioterapia mielosupresora), GM-CSF (pacientes con leucemia aguda linfocítica que van a recibir trasplante de médula ósea), IL-2 (carcinoma de células renales metastásico, pacientes con quemaduras severas), etc ^(38,152)

El problema del uso directo de citoquinas es que bajo diferentes condiciones una citoquina concreta puede ejercer efectos diferentes en el sistema inmune. La dosificación y el horario de tratamiento son críticos para que se produzcan respuestas

deseadas y evitar efectos indeseables. La administración terapéutica de una citoquina da lugar a la inducción de otras citoquinas *in vivo*. Muchas citoquinas tienen acciones que se solapan y pueden tener acciones que sinergizan o antagonizan con la citoquina administrada. Este fenómeno es el que da lugar a muchas secuelas tóxicas del tratamiento, pero también puede ser responsable de algunos efectos beneficiosos.⁽¹⁵²⁾

Hay otros compuestos con los que también se modula la actividad de las citoquinas como el *tenidap* y *auranofin* usados en el tratamiento de la artritis reumatoide por inhibir la producción de IL-1, IL-6 y TNF- α así como la ciclooxigenasa.^(139,153) Otros inhibidores de la ciclo-oxigenasa como la aspirina y el ibuprofeno, aumentan la síntesis de citoquinas (sobre todo TNF- α e IL-1 β) como se demuestra en estudios de Endres y cols.⁽¹⁵⁴⁾

Algunos *antibióticos* también son inhibidores de citoquinas como las quinolonas (Ciprofloxacina) y la polimixina B, que inhiben la producción de IL-1.⁽¹⁵⁵⁾

En el caso concreto de la IL-6 hay mucho interés en aplicarla clínicamente o neutralizar su actividad para el tratamiento de varias enfermedades y por su participación en el postoperatorio quirúrgico. Por su participación en la hematopoyesis multilineal y en la maduración de megacariocitos puede ser útil en el tratamiento de la mielosupresión y trombocitopenia idiopática, química o radiológicamente inducida. Puede ser útil en los trasplantes de médula ósea al aumentar las células progenitoras hematopoyéticas. Tras quimioterapia la IL-6 puede reducir la severidad de la trombocitopenia.⁽⁸⁶⁾

RELACIÓN CITOQUINAS-INFLAMACIÓN.

La inflamación es una respuesta local a la lesión tisular, infección o irritantes. La inflamación limita el daño causado por la lesión localmente. En el caso de un patógeno la inflamación limita su diseminación y mata y elimina el patógeno a través de la fagocitosis, sobre todo por los macrófagos y neutrófilos atraídos al lugar. La inflamación inicia un proceso general de reparación tisular, que comprende la proliferación de tejido conectivo, producción de elastina, colágeno, etc. Si se liberan

suficientes cantidades de citoquinas para acumularse sistémicamente o si la infección se disemina, IL-6, IL-1 y TNF inducen al hígado a iniciar la respuesta de fase aguda, que consiste en alteraciones del contenido iónico, enzimático y proteico del plasma. Este proceso inhibe la replicación de patógenos y acelera la respuesta inmune. La inflamación y la respuesta de fase aguda forman la primera línea de defensa contra agentes que han penetrado las barreras anatómicas y fisiológicas.^(156,157,158)

En la respuesta inflamatoria hay envueltos al menos cuatro sistemas adicionales: el sistema del complemento, sistemas de formación de quinina, sistema fibrinolítico y factores de coagulación.⁽¹⁵⁹⁾ La cascada del complemento produce C5a y C3a, quimioatrayentes potentes para neutrófilos y monocitos. La cascada quinina produce bradiquinina que dilata la microvasculatura local. La cascada de la coagulación produce trombina y fibrinopéptidos, que ejercen quimiotaxis para neutrófilos y monocitos. Las plaquetas activadas por la trombina liberan factores de crecimiento como TGF- β y PDGF. La activación del plasminógeno conduce a plasmina, que degrada la fibrina en productos de degradación de la fibrina que son quimioatrayentes y activadores de leucocitos, produciéndose citoquinas como LDGF(leukocyte derived growth factor), IL-1, IL-6 IL-8 y TNF, es decir, la coagulación y la inflamación interactúan.⁽¹⁶⁰⁾

En el lugar de la inflamación se produce ácido nítrico, se incrementa la permeabilidad capilar y hay constricción de las venas de drenaje, las células inmunes acuden al espacio tisular y hay quimiotaxis al lugar de la inflamación. Se produce degranulación de los mastocitos (que generalmente exageran la respuesta inflamatoria), se estimula la proliferación de células endoteliales y fibroblastos, etc. Los macrofagos circulantes y neutrófilos están entre las células atraídas y producen más citoquinas amplificando el proceso.⁽³⁷⁾

Tras producirse una herida quirúrgica hay, por tanto, tres fases en la reparación tisular: inflamatoria (participan las plaquetas, neutrófilos, macrófagos y linfocitos), proliferativa (migración de fibroblastos que generan la nueva matriz e

inicio de la neovascularización por las células endoteliales) y remodeladora (tejido cicatricial o de granulación), aunque no están claramente diferenciadas entre sí.⁽¹⁶¹⁾

Se sabe por tanto que las citoquinas participan en la inflamación, sobre todo IL-6, IL-1 y TNF aunque estos mediadores no están tan bien definidos como la histamina (incrementa la permeabilidad venular), serotonina, quininas (causan extravasación del plasma y son sustancias algógenas), prostaglandinas (responsables del eritema y potencian la exudación plasmática causada por mediadores que incrementan la permeabilidad vascular como la histamina), leucotrienos (mediadores lipídicos relacionados con las prostaglandinas que contribuyen a la formación de edema), etc.^(135,162,163) No debemos olvidar que también existen citoquinas antiinflamatorias, como IL-10, IL-1Ra y los receptores solubles de TNF.⁽¹⁶⁴⁾

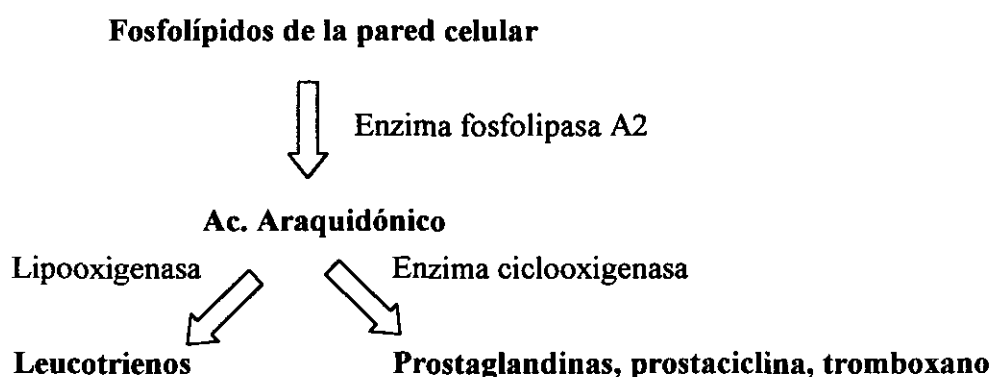
Hay fuertes interacciones entre las citoquinas inflamatorias, sobre todo entre IL-1 y TNF, cuyas acciones a menudo se solapan.⁽¹⁶⁵⁾ Ambas incrementan la adhesividad de células endoteliales vasculares para leucocitos polimorfonucleares, monocitos y linfocitos, aumentan el dolor, producen fiebre, etc.⁽¹⁶⁶⁾

Se debe hacer una distinción entre la inflamación aguda y la crónica. La inflamación aguda es un proceso de defensa, que permite un aislamiento y limitación del daño hasta que el tejido vuelve a la normalidad.⁽¹⁶¹⁾ La inflamación crónica es un proceso más complejo que persiste durante largos periodos de tiempo. A menudo está acompañada por los signos y síntomas de la inflamación aguda y normalmente da lugar a cambios irreversibles que pueden conducir a la incapacitación de órganos o miembros.⁽¹⁶²⁾

3.5. POSTOPERATORIO DEL TERCER MOLAR INFERIOR.

El principal problema que plantea la extracción quirúrgica del tercer molar inferior es que siempre aparecen, en menor o mayor cuantía, una triada sintomática constituida por inflamación, dolor y trismo.⁽¹⁾

La **inflamación** es una reacción fisiológica que se produce por el trauma producido sobre los tejidos blandos y duros al extraer el cordal. Este trauma quirúrgico activa el proceso inflamatorio que es una compleja serie de sucesos bioquímicos y celulares con participación de mediadores de la inflamación y sustancias algogénicas. Una de las sustancias más importantes en el proceso inflamatorio son las prostaglandinas y leucotrienos, conocidos como eicosanoides, productos del metabolismo del ácido araquidónico de las paredes de células dañadas.



La PGE2 es un potente mediador de la inflamación, dilatador del músculo liso vascular produciendo la vasodilatación y eritema de la inflamación aguda. La bradiquinina induce la quimiotaxis de leucocitos y aumenta la permeabilidad de los vasos produciendo la extravasación. Es también muy importante la serotonina que se libera de plaquetas activadas y mastocitos y potencia los efectos de otros mediadores de la inflamación como la bradiquinina. ⁽¹⁶⁷⁾

Los AINES actúan principalmente inhibiendo la enzima ciclooxigenasa, evitando así la síntesis de prostaglandinas del ác. araquidónico en el tejido inflamado. La ciclooxigenasa en una forma constitutiva COX 1 tiene un papel fisiológico en las plaquetas (liberación de tromboxano A2), en la mucosa estomacal (liberación de PG para proteger del daño por ácido) y riñón (control de la función). En la forma inducible COX 2, que es liberada por estímulo inflamatorio, es responsable de la formación de PGs proinflamatorias. La inhibición del efecto de la COX 1 es responsable de los efectos adversos de esta droga.

Los esteroides inhiben la formación del ácido araquidónico.

Tras la extracción de un tercer molar inferior la inflamación disminuye a partir del tercer o cuarto día, salvo que aparezcan complicaciones de tipo infeccioso.
(168)

El **dolor** ha sido definido por la asociación Internacional de Estudio del Dolor como “una experiencia desagradable sensorial y emocional asociada con un daño tisular real o potencial”⁽¹⁶⁹⁾ Al llevar un componente subjetivo es muy difícil medir el dolor.

El dolor que se presenta tras una exodoncia quirúrgica, puede ser catalogado de fisiológico, debido al trauma producido, siendo de carácter localizado y de intensidad muy variable. Por lo general no va a durar más de una semana y disminuye con el paso de los días hasta su desaparición.

Según la literatura revisada el dolor tras la extracción quirúrgica de un cordal es más intenso en las primeras 12 horas⁽¹⁷⁰⁾ alcanzando su máxima intensidad en las 6-8 horas postoperatorias.

El **trismo**, entendido como la restricción de la apertura bucal tras la cirugía del tercer molar inferior, está causado por una combinación de factores como el dolor, hematoma, edema y trauma a los músculos y tendones. Se da hasta 7-10 días tras la cirugía. Puede reflejar un acto voluntario para evitar la aparición de dolor. Norholt⁽¹⁶⁹⁾ afirma que efectivamente existe ese componente psicológico pues el paciente tiene miedo de producirse dolor al abrir la boca, pero también hay un componente fisiológico pues varios estudios confirman que el efecto antiinflamatorio es muy importante para reducir el trismo ya que por ejemplo el paracetamol apenas lo reduce⁽¹⁷¹⁾ y sí los otros AINES^(172,173,174) así como los esteroides⁽¹⁷⁵⁾

Según algunos autores hay diversos factores que influyen en la intensidad de esta triada sintomática como son el tiempo de intervención, la profundidad del cordal, la posición ,etc.^(168,170,176)

CONTROL TERAPÉUTICO DEL POSTOPERATORIO

Actualmente hay numerosas líneas de investigación intentando disminuir en la medida de lo posible esta triada sintomática,^(177,178,179,180,181,182) pero el agente terapéutico ideal aún no se ha encontrado.

Se han ensayado tratamientos físicos y tratamientos químicos o farmacológicos. Entre los tratamientos físicos destacan el láser y los ultrasonidos. Martínez-González⁽¹⁸³⁾ investigó sobre el efecto analgésico y antiinflamatorio del láser de Helio-Neon en el postoperatorio de la cirugía del tercer molar inferior, obteniendo como resultado que no había diferencias significativas con respecto al grupo control.

Los ultrasonidos tampoco parecen mejorar de forma sustancial el postoperatorio del tercer molar inferior según estudios de Hashish⁽¹⁸⁴⁾

Los métodos químicos incluyen fármacos del tipo de antibióticos, analgésicos y antiinflamatorios.

a) Antibióticos.

El uso sistemático de antibioterapia es un tema muy controvertido. En una encuesta realizada a cirujanos orales por Falconer y cols.⁽¹⁸⁵⁾ la mayoría de ellos prescriben antibióticos tras la cirugía del tercer molar inferior.

Algunos autores afirman que no es necesario administrar antibióticos puesto que la tasa de infecciones es menor del 1%.^(168,186)

En un estudio realizado por Alobera y cols.⁽¹⁸⁷⁾ se llegó a la conclusión de que el uso de antibióticos disminuía la inflamación y el trismo, así como diversas cepas bacterianas.

b) Analgésicos y antiinflamatorios:

Hay numerosos estudios en la literatura sobre la utilidad de diversos fármacos analgésicos y antiinflamatorios en el postoperatorio del tercer molar inferior. De hecho la cirugía del tercer molar inferior es un modelo de dolor bien documentado y

validado y es suficientemente sensitivo para permitir distinguir entre diferentes analgésicos. Además tiene la ventaja de que los pacientes son jóvenes y sanos.⁽¹⁸⁸⁾

Los AINES inhiben la síntesis de prostaglandinas y tromboxanos, reduciendo así su actividad sensibilizadora sobre terminaciones sensitivas, así como la actividad vasodilatadora y quimiotáctica. También son capaces de interferir en diversas funciones de los neutrófilos como su adhesividad, agregación, quimiotaxis, fagocitosis, degranulación, etc.

Actualmente disponemos de una amplia gama de AINES:^(189,190,191)

- Con grupo ác. carboxílico: Salicilatos: aspirina, diflunisal.
- Derivados del ác. 2 propiónico: Naproxeno, ibuprofeno, fenoprofeno, ketoprofeno.
- Derivados del ác. N-fenilntranílico: ác. mefenámico.
- Derivados del ác. indolacético: Indometacina, sulindac.
- Derivados del ác. fenilacético: Diclofenaco, alclofenaco, fenclofenaco.
- Derivados del ác. pirrolacético: ketorolaco, tolmetin.
- Derivados del para-aminofenol: paracetamol.
- Pirazolonas: Fenilbutazona, oxifenbutazona.
- Oxicams: Piroxicam, droxicam, tenoxicam.

De ellos, uno de los más utilizados en la cirugía del tercer molar inferior y también más investigados ha sido el diclofenaco, como lo demuestran los estudios de Hyrkäs⁽¹⁹²⁾ Walton y cols⁽¹⁹³⁾, Van der Wasthuijzer⁽¹⁷⁴⁾, Bridgman⁽¹⁹⁴⁾, etc.

Últimamente se está investigando también la eficacia del ibuprofeno, demostrando su utilidad en la reducción del dolor e inflamación en estudios de Northolt⁽¹⁸⁸⁾, Seymour,⁽¹⁹⁵⁾ Dionne⁽¹⁹⁶⁾, Seymour⁽¹⁹⁷⁾, Peterson⁽¹⁹⁸⁾, Jones⁽¹⁹⁸⁾ y Cooper⁽¹⁹⁹⁾ Otros AINES valorados son el ketorolaco⁽¹⁸¹⁾, naproxeno⁽²⁰⁰⁾, etc.

Además de antiinflamatorios no esteroideos (AINES), se han publicado múltiples trabajos sobre el tratamiento con diversos corticosteroides, de los que hablaremos a continuación de forma detallada:

Los glucocorticoides (GC) son moléculas esteroideas de 21 carbonos cuya actividad depende de un grupo OH en c11. Su secreción depende del eje hipotálamo-hipofisario (hpt-hpf) y es estimulada por el ACTH hipofisario (adrenocorticotropina) e inhibida por los esteroides (retroalimentación negativa sobre el ACTH). Tienen un ritmo circadiano con niveles máximos matutinos. Todo aumento en la concentración de glucocorticoide por encima de la secreción diaria fisiológica produce inhibición de la secreción endógena. ⁽²⁰¹⁾

La secreción de cortisol está constantemente sometida a influencias neurógenas y químicas que modulan su velocidad; el estrés psicológico y el esfuerzo físico incrementan extraordinariamente la secreción de cortisol; la hipertermia, la hipoglucemia, la exposición al frío, las quemaduras, las radiaciones, la hipotensión, las intervenciones quirúrgicas y otras situaciones favorecen la secreción de cortisol; La sobrecarga de glucocorticoides puede inhibir parcial o totalmente la respuesta al estrés. ⁽²⁰²⁾

Los corticoides tienen múltiples acciones fisiológicas y farmacológicas. Este conjunto de acciones suelen clasificarse en dos tipos: las glucocorticoides, representadas por la capacidad de almacenar glucógeno hepático y por la actividad antiinflamatoria, y las mineralocorticoides, representadas por la capacidad de retener sodio y agua. Muchos análogos sintéticos del cortisol muestran potencias crecientes de acción glucocorticoide y decrecientes de acción mineralocorticoide, lo que permite mayor seguridad en el uso, sin embargo, la acción glucocorticoide se asocia a la capacidad de inhibir la actividad de la función hipotálamo-hipofisaria, provocando, como hemos comentado anteriormente, la reducción en la función suprarrenal endógena. ⁽²⁰²⁾

Su principal **acción metabólica** es asegurar la concentración de glucosa en plasma y el suficiente almacenamiento de glucógeno en hígado y músculo. En el tejido graso los corticoides redistribuyen la grasa en el organismo promoviendo su depósito en la mitad superior del cuerpo y reduciéndolo en la inferior.

También tienen **acciones hidroelectrolíticas**, actuando sobre el equilibrio hidroelectrolítico e induciendo en el riñón un aumento de la tasa de filtración glomerular y del flujo sanguíneo renal, y aumentan el aclaramiento de agua libre; de

hecho, cuando hay deficiencia de secreción glucocorticoide disminuye la capacidad para excretar agua libre.

Son muy importantes sus **acciones antiinflamatorias e inmunodepresoras**. Ejercen una poderosa acción antiinflamatoria, sea cual sea la causa de la inflamación (infecciosa, química, física o inmunológica), pudiendo inhibir tanto las manifestaciones inmediatas de la inflamación (rubor, dolor, etc.) como tardías, entendiendo por tales ciertos procesos de cicatrización y proliferación celular. Inhiben la dilatación vascular, reducen el transudado de líquido, y la formación de edema, disminuyen el exudado celular y reducen el depósito de fibrina alrededor del área inflamada. Para que esta acción se manifieste son necesarias dosis farmacológicas, pero la respuesta es muy intensa.⁽²⁰³⁾

Una única dosis intravenosa de corticoides da como resultado un cambio rápido en el número de células inflamatorias circulantes. Mientras disminuye el número de linfocitos, monocitos, eosinófilos y basófilos, los leucocitos polimorfonucleares aumentan. Este aumento es debido a una combinación de una producción aumentada de PMN en médula ósea y una demarginación de PMN maduros que de otro modo están adheridos a células endoteliales. La forma de inhibir el reclutamiento de linfocitos es mediante la inhibición de la producción de citoquinas.⁽²⁸⁾ Las citoquinas, como hemos visto, juegan un papel crítico en prácticamente todas las respuestas inflamatorias. Los corticoides inhiben la expresión in vivo de IL-1, IL-2, IL-3, IL-4 IL-6, IL-10, así como TNF- α e IFN- γ .^(144,146) Los corticoides también inhiben otros compuestos inflamatorios como los metabolitos del ácido araquidónico (prostaglandinas, tromboxanos y leucotrienos)⁽¹⁴⁶⁾

En dosis pequeñas los glucocorticoides no afectan la producción de anticuerpos por parte de los linfocitos B, pero en dosis altas se aprecia cierta reducción en la producción de anticuerpos.

También inhiben la producción de procolágeno en los fibroblastos, lo que puede explicar la actividad inhibidora sobre los fenómenos de cicatrización.

Sus **acciones cardiovasculares** son complejas porque a ellas contribuyen tanto la actividad mineralocorticoide como la glucocorticoide; además los efectos

observados dependen del estado previo del aparato circulatorio y de la secreción hormonal, así como de la dosis que se utilice. El uso mantenido llega a producir hipertensión arterial.

En cuanto a las **acciones musculoesqueléticas** se ha visto que tanto la reducción como el exceso de actividad corticoide provocan debilidad muscular. Las dosis excesivas de glucocorticoides inducen catabolismo proteico en los músculos; esto explica la reducción de la masa muscular y la debilidad y fatiga consiguientes. Existe, además una disminución de la perfusión vascular del músculo que contribuye a su menor nutrición y desarrollo. En el hueso, los glucocorticoides a dosis altas aumentan el catabolismo e inhiben la actividad osteoblástica; se favorece por tanto la reabsorción ósea y la instauración de osteoporosis.

Tiene **acciones sobre otras hormonas** como la del crecimiento, produciéndose la detención del crecimiento del niño en tratamientos prolongados.

Sobre el **sistema nervioso central** se ha observado que la carencia de cortisol en la enfermedad de Addison y su exceso en la enfermedad de Cushing (o cuando se administran de forma exógena en abundancia), originan cuadros psiconeurológicos que comprenden desde la sensación de bienestar o euforia hasta estados claramente psicóticos. Puede provocar euforia, insomnio, intranquilidad, hiperactividad motora y en ocasiones ansiedad o depresión.⁽²⁰³⁾

Sobre las características farmacocinéticas, diremos que el cortisol se absorbe bien por vía oral; existen sales y ésteres solubles e insolubles que permiten la inyección parenteral por diversas vías, La administración rectal o la aplicación tópica en forma de aerosol, enemas, cremas o soluciones. Aproximadamente el 90% del cortisol plasmático se halla unido a proteínas y sólo la fracción libre pasa a los tejidos y es activa. Los corticoides sintéticos se absorben bien por vía oral, siendo en general su biodisponibilidad superior a la del cortisol. Se unen menos intensamente a las proteínas plasmáticas que el cortisol, por ello pasan con mayor rapidez a los tejidos. En la tabla 9 se encuentran resumidas estas características.

Tabla 9: Características farmacocinéticas de los glucocorticoides. ⁽²⁰²⁾

CORTICOIDE	BIODISPONIBILIDAD	VIDA MEDIA (h)	UNIÓN PROTEÍNAS (%)
Cortisol	30-90	8-12	90
Prednisolona	80	18-36	70-90
Metilprednisolona	80-99	18-36	77
Dexametasona	90	36-54	66-77

Según el tiempo durante el cual mantienen suprimido el eje hpt-hpf se dividen en glucocorticoides de acción corta (24-36 horas), de acción intermedia (48 horas) y de acción larga (más de 48 horas).(Tabla 10)

Tabla 10: Clasificación de los glucocorticoides. ⁽²⁰¹⁾

Vida media	Actividad glucocorticoide	Actividad mineralcorticoide	Nombre comercial
Acción corta			
Hidrocortisona	20	++	Actocortina®
Prednisona	5	+	Dacortín®
Prednisolona	5	+	Solu-Dacortin®
Metilprednisolona	4	+	Urbason®
Fludrocortisona	2	++++	Fludronef®
Deflazacort	7,5	+	Zamene®
Acción intermedia			
Triamcinolona	4	-	Ledercort®
Flucortolona	5	-	Ultralán®
Acción larga			
Betametasona	0,75	-	Celestone®
Dexametasona	0,75	-	Decadrán®
Parametasona	2	-	Cortidene®

Lo mejor es emplear los de acción corta por vía oral o parenteral, pues suprimen menos el eje.

Por último debemos hablar de las reacciones adversas, sobre todo de las que vienen dadas por la supresión de la secreción endógena. En principio, si la duración de la administración es corta (no mayor de 7-10 días), la función adrenal se recupera de inmediato, pero si se prolonga más de dos semanas, los cambios atróficos se establecen de manera que, al suspender bruscamente la medicación sobreviene una insuficiencia suprarrenal aguda. ⁽²⁰²⁾

Dosis muy elevadas durante un tiempo prolongado inducirán signos de hipercorticalismo o Cushing, con aumento de peso, redistribución de la grasa en cara cuello y abdomen, acné, retención de sodio y agua, hipertensión, diabetes, osteoporosis, cierre de las epífisis en niños, adelgazamiento de la piel y trastornos en la cicatrización de heridas. La acción antiinflamatoria e inmunosupresora facilita la aparición de infecciones. ⁽²⁰³⁾

Los corticoides han sido ampliamente utilizados en todo el mundo tras la cirugía del tercer molar inferior, aunque su uso sigue suscitando algo de controversia por los posibles efectos colaterales comentados anteriormente. Son numerosos los estudios que intentan evaluar los beneficios del uso de estas sustancias, así, Milles⁽¹⁸²⁾ en 1993 y Olstad⁽²⁰⁴⁾ evaluaron la eficacia de la metilprednisolona en la reducción del edema facial postoperatorio, observando una menor inflamación en estos pacientes, no influyendo, sin embargo en el dolor ni en el trismo. En estudios de Holland⁽²⁰⁵⁾ el postoperatorio fue mejor con el uso de metilprednisolona tanto por disminución del dolor como de la inflamación (un 56%). Sin embargo en otros estudios también con metilprednisolona Bystedt y cols⁽²⁰⁶⁾ no encontraron diferencias estadísticamente significativas.

Al contrario de lo que ocurre con los AINES tras la cirugía del tercer molar inferior se puede emplear diferentes dosis y vías de administración de corticoides, por ejemplo, Bultler et al ⁽²⁰⁷⁾ usaron en su estudio la dexametasona a pulsos, es

decir, varias dosis de 10 mg separadas por intervalos cortos de tiempo, demostrando que la supresión de la secreción de cortisol endógeno de las glándulas suprarrenales por un sistema de retroalimentación del eje hipotalámico-pituitario-adrenal es mínima cuando se usa una terapia a pulsos con dosis moderadas. Otros autores administran una única dosis prequirúrgica como Newpert⁽¹⁷⁵⁾ y Esen⁽²⁰⁸⁾, obteniendo también resultados significativos en la mejoría del postoperatorio.

4. MATERIALES Y METODOLOGÍA

El presente estudio ha sido dividido en una fase clínica y una fase de laboratorio, empleándose el siguiente material:

- 1.- Recursos humanos
- 2.- Material diagnóstico complementario
- 3.- Material quirúrgico
- 4.- Material de laboratorio
- 5.- Material farmacológico
- 6.- Material de medición y control

1.- Recursos humanos.

73 pacientes divididos en dos grupos, el grupo A constituido por 36 pacientes que tomaron diclofenaco sódico y el grupo B formado por 37 pacientes que tomaron metilprednisolona. Se explicará más detalladamente en el apartado de metodología.

2.- Material de diagnóstico complementario:

A los pacientes se les realizó una radiografía panorámica para valorar la situación y posición de los cordales inferiores a intervenir y su relación con las estructuras anatómicas vecinas.

3.- Material quirúrgico:

Se utilizó el material quirúrgico habitual en la cirugía del tercer molar inferior:

Anestesia con vasoconstrictor (articaina-Ultracain®-)

Hojas de bisturí nº 15 desechables.

Mango de bisturí del número 3.

Periostotomo.

Separador tipo Langenbeck.

Pinza mosquito.

Pieza de mano con motor eléctrico.

Fresas de carburo de tungsteno, redondas y de fisura.

Elevadores rectos y Winter.

Cucharilla de legrado.

Pinzas.

Porta-agujas.

Seda 2-0 con aguja atraumática.

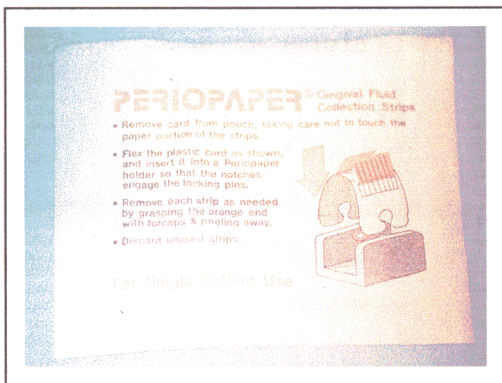
4.- Material de laboratorio: (Figura 1)

Puntas de papel. (Periopaper strip®. Proflow Incorporated. New York. USA)

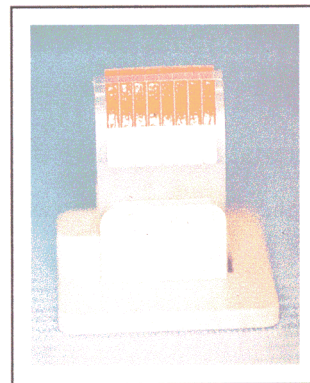
Periotron® 6000 (Proflow Incorporated. New York. USA)

Tubos. (Microspin filters®-Teknocrroma)

Figura 1 : Material de laboratorio



Puntas de papel Periopaper



Puntas en el soporte



Periotron



Viales con filtro

5.- Material farmacológico:

Todos los pacientes recibieron tratamiento antibiótico con amoxicilina por vía oral. Se prescribieron dosis de 750 mg cada 8 horas durante los 7 días siguientes al tratamiento quirúrgico del tercer molar inferior.

Los pacientes que formaron el grupo A recibieron un antiinflamatorio no esteroideo, diclofenaco sódico (Voltarén®) como terapia antiinflamatoria, por vía oral a dosis de 50 mg cada 8 horas durante los primeros tres días del periodo postoperatorio.

Los pacientes del grupo B recibieron un glucocorticoide, metilprednisolona (Urbasón®), también por vía oral y a dosis de 4 mg cada 8 horas.

Todos recibieron como fármaco analgésico complementario o de rescate metamizol magnésico (Nolotil®) por vía oral a dosis de 575 mg para ser utilizado cada 6 u 8 horas a demanda en caso de dolor. La cantidad de cápsulas tomadas por cada paciente se incluyó en los parámetros de evaluación.

6.- Material de medición y control.

Se utilizó una ficha con los parámetros clínicos pre y postoperatorios y una ficha para el paciente.

Para medir los parámetros clínicos se utilizó un calibre (para evaluar el trismo), dos pinzas mosquito e hilo de sutura de 00 (para evaluar la inflamación).

En cuanto al material de laboratorio fue el siguiente:

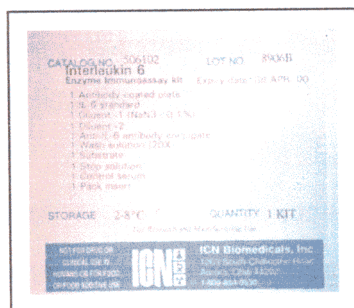
- Aparatos:
- Congelador para mantener las muestras a -80°C .
 - Microjeringa de Hamilton. Hamilton Bonaduz A. G. Suiza.
 - Micropipetas.
 - Vibrador de pocillos. (IKA-Works Inc.®USA) con velocidad comprendida entre 200-2 500/min.
 - Lavador automático. (Easy washer EAW 8/12®).
 - Lector (Easy reader EAR 400®) e impresora.

-Centrifugadora. (Selecta®)

Materiales: -Kit de IL-6. (ICN Pharmaceuticals, Inc. California)

El kit utilizado consta de los siguientes componentes. (Figura 2)

Figura 2: Kit de IL-6



Kit de IL-6



Componentes del Kit de IL-6

-Placa de 96 pocillos. Son pocillos recubiertos de anticuerpo anti-IL-6 monoclonal con 8 filas y 12 columnas, listos para usar.

-Vial con estándar liofilizado (5ng). Contiene IL-6 humana recombinante, liofilizada con un conservante.

-Vial con conjugado de IL-6 liofilizado. Se trata de acetilcolinesterasa conjugada con Ac anti-IL-6 monoclonal; el vial contiene IL-6 conjugada liofilizada con un conservante.

-Vial con diluyente 1 (25 ml). El diluyente contiene proteínas y ácido de sodio. (<0,1%).

-Vial con diluyente 2 liofilizado. El diluyente contiene suero humano y conservante, y se usa cuando se analizan muestras de plasma y suero

-Vial con solución de lavado (50ml). Se diluye en un litro de agua destilada.

-Vial de sustrato liofilizado. El sustrato consiste en acetiltiocolina y ditiobenzoato sódico en buffer potasio fosfato, Ph 7,4.

-Vial con solución stop o de parada (6ml). Esta solución contiene tacrina, un inhibidor reversible de la actividad acetilcolinesterasa.

-Vial con suero IL-6 control liofilizado.

METODOLOGÍA

La metodología seguida se basó en los siguientes puntos:

- 1.- Selección de pacientes.
- 2.- Procedimiento clínico.
- 3.- Mediciones clínicas.
- 4.-Colección de Fluido Crevicular Gingival (FCG)
- 5.- Cuantificación de IL-6 mediante prueba ELISA.
- 6.- Análisis estadístico.

- 1.- Selección de pacientes.

1.1- Lugar:

Pacientes que acudieron a la Unidad de Cirugía Bucal (Departamento de Medicina y Cirugía Bucofacial) de la Facultad de Odontología de la Universidad Complutense de Madrid para la extracción quirúrgica de terceros molares inferiores.

1.2.- Criterios de inclusión/exclusión:

Los criterios de inclusión fueron los siguientes:

- Pacientes que precisaban extracción quirúrgica de terceros molares parcial o completamente retenidos.
- Consentimiento para participar en el estudio.
- Buen estado general.
- Edad comprendida entre 18 y 42 años.

Y en cuanto a los criterios de exclusión:

- Embarazo o lactancia.

- Patología sistémica.
- Pacientes que hubieran tomado antibióticos o antiinflamatorios en los últimos dos meses.
- Incumplimiento del protocolo.
- Todo paciente podría ser excluido si :

El paciente lo requirió.

Si el investigador opinó que el tratamiento no había sido realizado correctamente.

Si aparecieron efectos secundarios de importancia que aconsejaron suspender el tratamiento.

1.3.- Randomización del estudio:

La randomización se realizó mediante tablas de números aleatorios, agrupándose posteriormente en dos grupos.

Grupo A. Formado por 36 pacientes que tomaron un AINE (diclofenaco sódico) como antiinflamatorio.

Grupo B: Formado por 37 pacientes que tomaron un corticoide (metilprednisolona).

1.4.- Consentimiento informado:

El paciente fue informado de su participación en el estudio solicitando su permiso ante un testigo.

2.- Procedimiento clínico.

La totalidad de los pacientes fueron sometidos al tratamiento quirúrgico, siguiendo los pasos que se detallan a continuación:

- Anestesia troncular de los nervios dentario, lingual y bucal.
- Incisión mucosa en bayoneta.
- Despegamiento mucoperióstico.

- Ostectomía con irrigación con suero fisiológico.
- Extracción del cordal.
- Eliminación del saco pericoronario y legrado.
- Regularización ósea y legrado de la zona quirúrgica.
- Sutura de la herida.

La intervención fue realizada siempre por el mismo cirujano. Finalizado el tratamiento se prescribió a los pacientes el siguiente tratamiento:

- Grupo de estudio con diclofenaco:

Amoxicilina 750 mg/8 h vía oral 7 días.

Diclofenaco sódico (Voltarén®) 50 mg/8 h vía oral 3 días.

Metamizol (Nolotil®) como analgésico.

- Grupo de estudio con corticoide:

Amoxicilina 750 mg/8 h vía oral.

Metilprednisolona (Urbasón®) 4 mg/8 h vía oral 3 días.

Metamizol (Nolotil®).

3.- Mediciones clínicas.

Antes de comenzar la intervención se cumplimentó una ficha donde se hizo constar los datos epidemiológicos y clínicos.

Se confeccionó también una ficha postoperatoria donde se reflejaron los parámetros clínicos analizados en nuestro estudio, esto es, inflamación, dolor y trismo.

Para valorar la inflamación, se utilizó el método descrito por Laskin⁽²⁰⁹⁾, realizándose unas mediciones determinadas, con unos puntos de referencia concretos, que describiremos a continuación. Estas determinaciones se repitieron tres veces: una

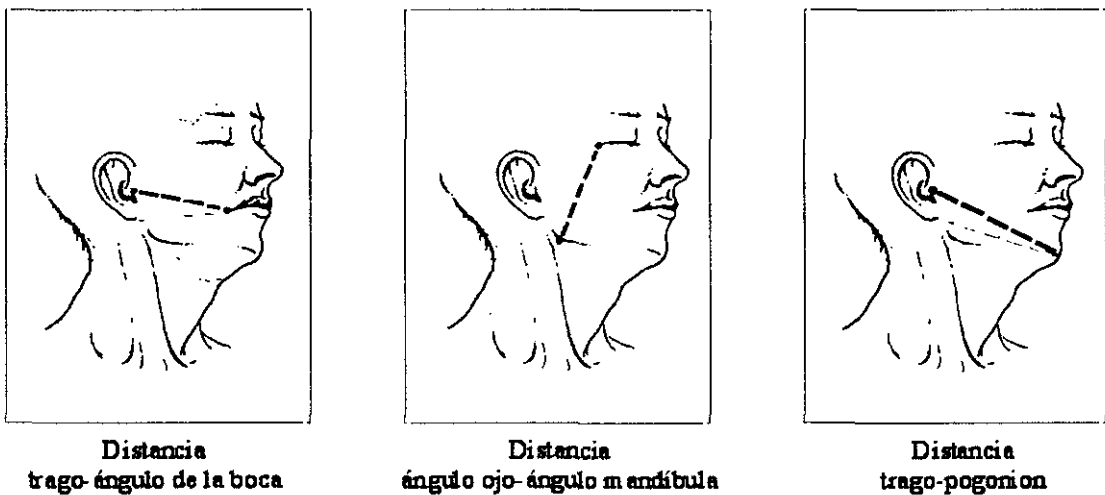
inmediatamente antes de la intervención, otra en la revisión de las 24 horas y la última a los 7 días junto a la retirada de puntos. Estas distancias fueron medidas del siguiente modo:

Distancia en milímetros desde el ángulo externo palpebral hasta el ángulo goniaco del lado intervenido, que denominamos ángulo del ojo-ángulo de la mandíbula (AO-AM) .

Distancia en milímetros desde el borde inferior del trago hasta el ángulo externo de la comisura bucal, que denominamos trago-ángulo de boca (T-AB).

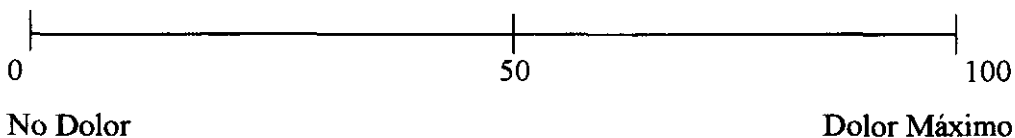
Por último la distancia desde el borde inferior del trago hasta el punto medio de la sínfisis mentoniana, y la denominamos trago-pogonion (T-P). (Figura 3)

Figura 3: puntos de referencia para valorar la inflamación.



La valoración del dolor se hizo mediante una escala visual analógica (EVA) y otra semicuantitativa:

Escala visual analógica (EVA)



El 0 representa no dolor y el 100 dolor máximo o insoportable.

Escala semicuantitativa:

		Primer día	Segundo día	Tercer día	Cuarto día	Quinto día
DOLOR	Ausente					
	Leve					
	Moderado					
	Intenso					
Nº cápsulas (Nolotil®)						

El control del dolor se hizo en la primera hora, a las 8 horas, 24 horas, 48 y 72 horas, anotándolo el paciente en la ficha mediante las escalas antes mencionadas. Asimismo al paciente se le pidió que anotara el número de analgésicos consumidos para aliviar el dolor.

Para valorar el trismo se empleó un calibre, que nos medía la distancia interincisal con el paciente en máxima apertura. Esta medida se realizó antes de la intervención, a las 24 horas y al séptimo día.

4.- Colección de Fluido Crevicular Gingival (FCG).

4.1.- Fase clínica:

Se tomaron cinco muestras a cada paciente de fluido crevicular gingival mediante puntas de papel estériles (Periopaper Strip®). Se usó fluido crevicular gingival por ser un exudado liberado como resultado de inflamación de los tejidos subyacentes al epitelio crevicular. Se considera que el volumen de este fluido está relacionado con el grado de inflamación. Además es una técnica fácil y no invasiva.

Muestra preoperatoria: Se tomó justo antes de realizar la anestesia local para la intervención. Fue recogida de la bolsa pericoronaria del cordal en los casos en que éste perforaba parcialmente la mucosa del trigono retromolar, y del surco crevicular

de la cara distal del segundo molar definitivo en los casos en los que el tercer molar no era visible.

Las otras muestras se tomaron inmediatamente después de la intervención, una hora después, 24 horas y a los siete días junto a la retirada de puntos, en la misma localización que la muestra preoperatoria.

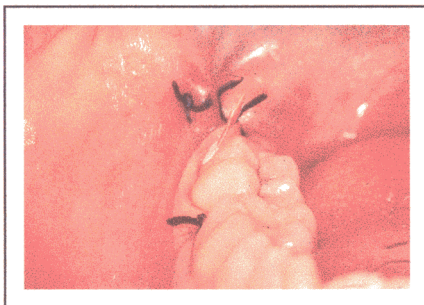
Figura 4: toma de muestras de fluido crevicular gingival.



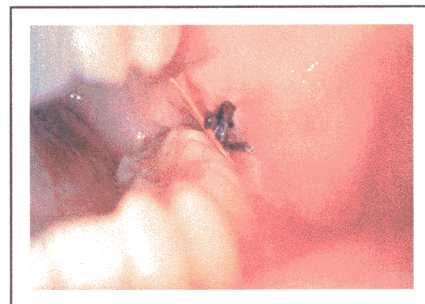
Toma de FCG antes de la intervención



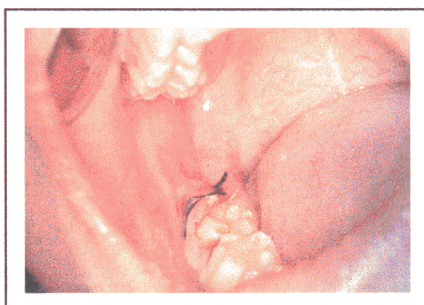
Inmediatamente después



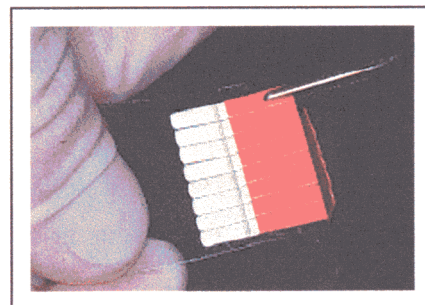
Una hora después



A las 24 horas



A los 7 días



Modo de coger las puntas de papel

Cada toma se realizó de la siguiente forma:

- Secado de la boca con aspiración.
- Aislamiento de la zona con rollos de algodón.
- Secado suave con aire del segundo o tercer molar inferior según el caso.
- Toma de la muestra de fluido crevicular o la sangre del lecho quirúrgico mediante la colocación del periopaper en el surco crevicular. Esta punta de papel se mantuvo en la posición citada durante 30 segundos si lo recogido es fluido crevicular y la mitad del tiempo si es sangre.
- Colocación de las muestras entre los sensores del Periotrón para obtener en unidades de periotrón la cantidad de fluido crevicular recogido.
- Introducción de la muestra así tomada en un vial con filtro y éste conservado en hielo seco hasta su conservación en congelador a -80°C .

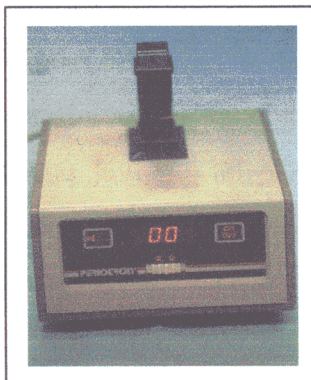
4.2.- Calibración y uso del Periotrón®: (Figura 5)

El periotrón se usa para determinar el volumen de fluido crevicular gingival recogido con las puntas de papel Periopaper®, pero debe ser calibrado de forma adecuada antes de su uso para cuantificar correctamente este fluido crevicular gingival, pues en la pantalla nos va a aparecer un número, que viene definido como unidad de Periotrón y para obtener microlitros es necesario construir gráficas de calibración, usando cantidades conocidas de fluido.

El Periotrón se enciende y se deja calentar durante 10 minutos antes de su uso de acuerdo con las instrucciones del fabricante. El aparato se coloca a cero colocando una punta de papel seca y ajustando el dial hasta que en la pantalla digital aparece el cero. Se usa una microjeringa de Hamilton (volumen máximo 2 μl , con gradaciones de 0,02 μl) para dispensar volúmenes conocidos de líquido de calibración (suero humano, por ser similar al fluido crevicular gingival en viscosidad y composición) en las puntas de papel. Estas puntas son transferidas rápidamente a los sensores del Periotrón (2-3 segundos) para evitar errores de evaporación. Las puntas deben ser

posicionadas de una forma estandarizada de modo que la línea negra de las puntas queda fuera de los sensores, se habrá obtenido la unidad de periotrón cuando tras unos 16 segundos observamos que de la posición I pasamos a la posición II en la parte frontal del aparato. Entre cada muestra se deben limpiar estos sensores con una gasa humedecida con alcohol. Cada volumen fue medido al menos por triplicado y la máquina se volvió a poner a cero después de cada muestra. Obtenemos de este modo dos variables: Por un lado el volumen en μl de suero sanguíneo dispensado mediante la microjeringa de Hamilton y por otro las unidades del Periotron (media de las mediciones que se hicieron por triplicado), con estas mediciones podremos realizar una curva de regresión lineal con la que obtendremos una fórmula del tipo $y=ax+b$, siendo a la pendiente de la curva y b la intersección del eje, x es el fluido crevicular en unidades de periotrón, y conocidos todos estos datos podemos obtener el volumen de este fluido en μl . (Anexo página 88: curva de regresión lineal de Periotrón)

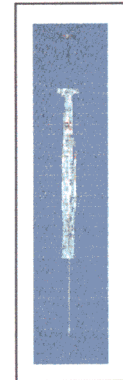
Figura 5: calibración y uso del periotron



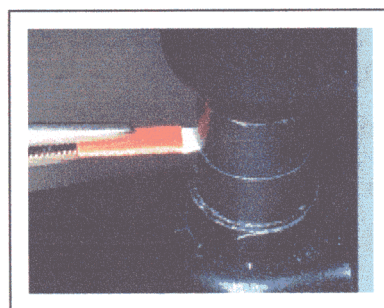
Periotrom ajustado a 0



Periotrom marcando un valor



Microjeringa de Hamilton

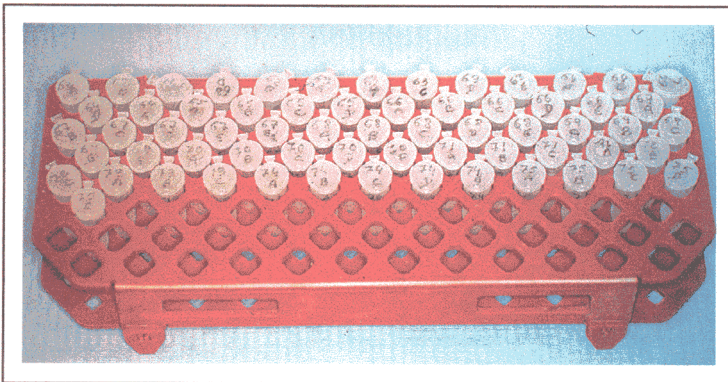


Manera correcta de insertar las puntas de papel

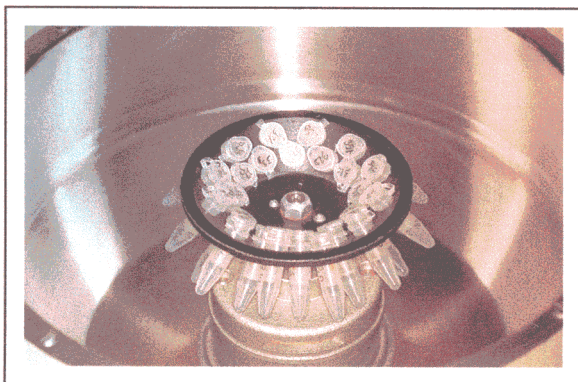
5.- Procesamiento de las muestras para cuantificación de IL-6 mediante prueba ELISA.

Una vez en el laboratorio, se procedió a tratar las muestras mediante la prueba ELISA. Es un enzimo-inmunoensayo tipo “sandwich”. Las muestras y los estándar son incubados en pocillos microtiter, revestidos con un anticuerpo anti-IL-6 monoclonal, en presencia de un segundo anticuerpo anti-IL-6 monoclonal unido a acetilcolinesterasa. Tras la incubación los pocillos son lavados y la actividad enzimática es medida añadiendo un sustrato cromogénico. La intensidad de color es proporcional a la concentración de IL-6 en la muestra o en el estándar. Este ensayo ha demostrado ser muy eficaz en la cuantificación de citoquinas.^(210,211,212)

Figura 6: Centrifugación de las muestras



Soporte con las muestras preparadas para centrifugar



Centrifugado de las muestras

Para separar la muestra completamente del Periopaper®, se diluyó el FCG de las puntas de papel mediante filtración por centrifugación con alícuotas de buffer (50 mM buffer fosfato, pH 7,2). En resumen, 200 µl del buffer antes mencionado se aplicó a cada punta de papel y el tubo se centrifugó a 8000 r.p.m. durante 10 minutos. (Figura 6)

Los reagentes se prepararon del siguiente modo:

El conjugado de IL-6 liofilizado se reconstituyó con el volumen de agua destilada que aparecía en la etiqueta del vial, es decir, 12 ml.

Se reconstituyó el diluyente 2 con 6 ml de agua destilada.

Se diluyó la solución de lavado con 950 ml de agua destilada.

El estándar de IL-6 liofilizado se reconstituyó con 0,5 ml de agua destilada, con lo que se obtuvieron 10 ng/ml de estándar.

El suero control se reconstituyó con 1 ml de agua destilada.

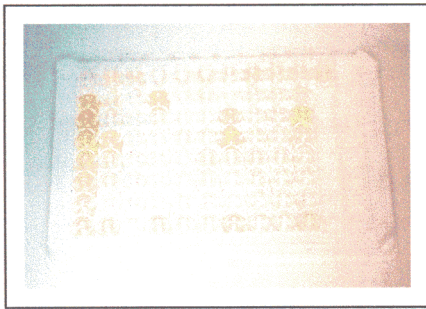
En nuestro caso no se utilizó el diluyente 1 puesto que éste es para muestras de sobrenadante de cultivo.

Antes de comenzar cada ensayo se preparó una curva patrón (para ello se utilizaron las siguientes series de diluciones usando los 10 ng/ml de estándar):

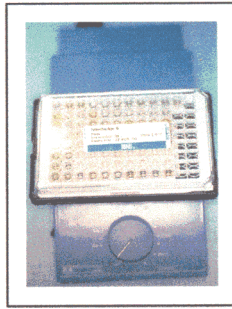
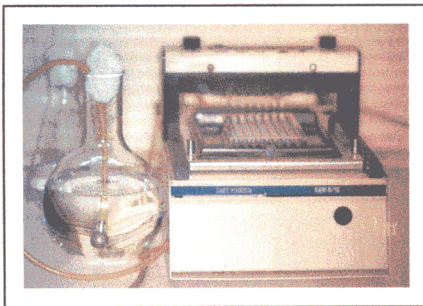
	Concentración del estándar pg/ml (S)	IL-6 μ l	Diluyente 2 (μ l)	Pocillos
S1	1000 pg/ml	50 de 10 ng/ml estándar	450	2-3
S2	500 pg/ml	200 de 1000 pg/ml (S1)	200	4-5
S3	250 pg/ml	200 de 500 pg/ml (S2)	200	6-7
S4	125 pg/ml	200 de 250 pg/ml (S3)	200	8-9
S5	62,5 pg/ml	200 de 125 pg/ml (S4)	200	10-11
S6	31,25 pg/ml	200 de 62,5 pg/ml (S5)	200	12-13
S7	15,6 pg/ml	200 de 31,25 pg/ml (S6)	200	14-15
S8	Cero	200 de 15,6 pg/ml (S7)	200	16-17

Una vez obtenida la curva patrón se procedió a la realización del ensayo con las muestras de fluido crevicular gingival siguiendo el siguiente protocolo: (Figura 7)

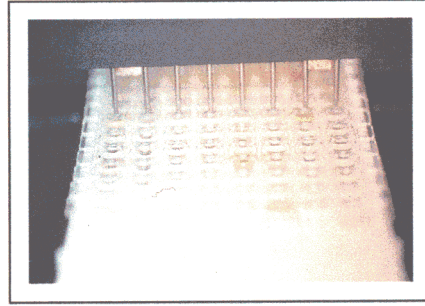
Figura 7: ELISA.



Placa de pocillos

Vibrado de pocillos
sin taparVibrado de pocillos
en oscuridad

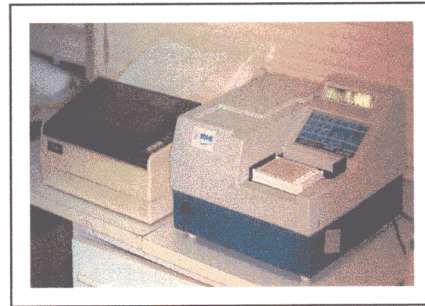
Lavadora de pocillos



Detalle de lavado



Lectura

Lectora conectada
a impresora

- 1.- Añadir 100 μ l de estándar, control o muestra al apropiado número de pocillos para el ensayo, excepto al primer pocillo. Éste es usado como sustrato blanco.
- 2.- Añadir 100 μ l de conjugado a cada pocillo, excepto al blanco.
- 3.- Cubrir la tapa con la tapa e incubar durante 120 minutos a 18-25°C con agitación constante a 350 rpm en un agitador de placas microtiter.
- 4.- 10 minutos antes del final de la incubación se reconstituye el sustrato con el volumen de agua destilada indicada en la etiqueta.

5.- Lavar los pocillos, incluyendo el blanco del sustrato. Es esencial remover todos los componentes no unidos en los ensayos enzimáticos. Nosotros hemos lavado de forma automática tres veces constatando que el fluido en los pocillos es completamente aspirado, que los pocillos se rellenan con la solución de lavado y que ésta es inyectada rápidamente (aproximadamente un segundo para rellenar cada pocillo) (Protocolo prueba ELISA en el anexo página 87)

Lo anterior se puede resumir en la siguiente tabla:

Tabla 11: Resumen del procedimiento del ensayo.

PASO INMUNOLÓGICO	PASO ENZIMÁTICO	LECTURA
<p>A los pocillos revestidos con Ac añadir:</p> <ul style="list-style-type: none"> - 100 µl de estándar control o muestra. Después: - 100 µl de conjugado. - Incubar durante 120 m a 18-25°C con agitación a 350 rpm. 	<ul style="list-style-type: none"> - Aspirar - Lavar - Añadir 200µl de sustrato - Incubar 30 m en oscuridad a 18-25°C agitando a 350 rpm 	<ul style="list-style-type: none"> - Añadir 50 µl de solución stop - Leer la absorbancia entre 405 y 414 nm.

Los resultados de las muestras fueron calculados por interpolación de la curva patrón que se realizó en el mismo ensayo que las muestras, como se explica a continuación:

Obtuvimos una curva de regresión lineal mediante los datos obtenidos con la curva patrón que se hizo antes de comenzar cada ensayo, para obtener una fórmula del tipo $y=ax+b$. Al igual que en la curva de calibración del periotrón a es la pendiente y b es la intersección con el eje, x es la adsorbancia que obtuvimos al realizar la prueba ELISA y, en el caso de la curva patrón conocemos la concentración del estándar de IL-6 : 15,6 - 31,25- 62,5- 125-250 y 500 µl. Al realizar la prueba ELISA con las muestras de FCG obtenemos la adsorbancia, pero necesitamos cantidad de IL-6 y

concentración. Mediante la fórmula de regresión $y=ax+b$, siendo, como hemos dicho, a la pendiente, x la adsorbancia y b la intersección, obtenemos el volumen en Pg/ μ l, pero para obtener la cantidad total se debe multiplicar por 200, ya que la tira de papel se diluyó en 200 μ l. Como el volumen de FCG varía entre cada paciente y según el momento de la toma, la concentración de IL-6 la obtendremos dividiendo la cantidad total por el volumen de FCG. En la página 89 anexo se encuentra reflejado el modelo de curva patrón y la fórmula de regresión lineal.

8.- Tratamiento estadístico.

La evaluación estadística fue realizada en el Centro de Proceso de Datos de la Universidad Complutense de Madrid, donde se usó para tal fin el programa estadístico BMDP. A continuación describimos, muy brevemente los programas utilizados para cada test estadístico concreto.

-BMDP2D. Descripción detallada de datos. Frecuencias. Calcula frecuencias y porcentajes de cada valor particular. Calcula la media, mediana y moda, errores estándar de la media y mediana, etc.

-BMDP4F. Tablas de frecuencias. Analiza datos categóricos o cualitativos en tablas (dobles o múltiples) de frecuencias.

-BMDP6D. Gráficos bivariantes. Estudia la relación entre dos variables cuantitativas a través del gráfico de una variable respecto a otra y el cálculo de la Correlación y su significatividad.

-BMDP3D. T Test. Ejecuta los test t para dos grupos (asumiendo o no igualdad de varianzas). La igualdad de varianza se contrasta con el test de Levene (lo que nos indicará si es más adecuado Pooled T o Separate T). De esta forma comparamos las medias de una variable cuantitativa en cada uno de los dos grupos determinados por una variable categórica.

-BMDP2V. Análisis de la varianza de medidas repetidas. Para analizar conjuntamente la evolución de las variables en los distintos momentos de tiempo. Se contrasta el efecto grupo (si hay diferencias entre diclofenaco y metilprednisolona con los tres tiempos conjuntamente), el efecto tiempo (si hay diferencia entre los distintos tiempos considerando los dos grupos conjuntamente) y el efecto interacción (si los cambios en el tiempo son diferentes en los dos grupos).

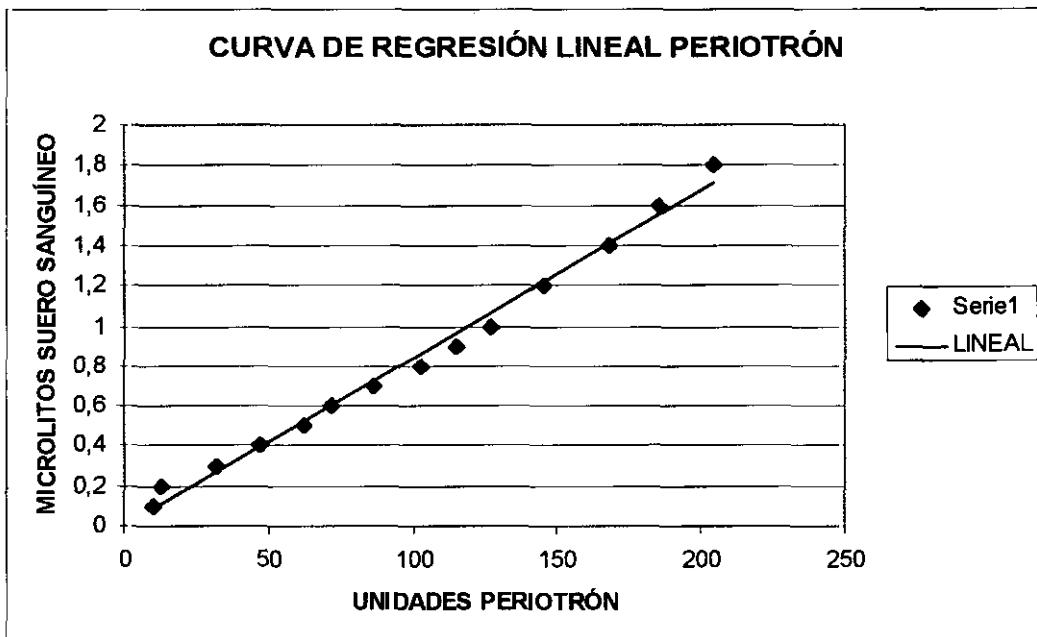
ANEXO

Protocolo prueba ELISA

	IL-6 estándar	Control	Muestra	IL-6 conjugado			Sustrato		Solución stop	Lectura
Blanco	***	***	***	***	Tapar e incubar 120 m. 18-25° con agitación constante a 350 rpm.	Lavar las placas	200µl	Tapar e incubar 30 m. 18-25° con agitación constante 350 rpm en oscuridad	50µl	405-414nm ajustando el cero con el blanco
1000µg/ml	100µl	***	***	100µl			200µl		50µl	
1000µg/ml	100µl	***	***	100µl			200µl		50µl	
250µg/ml	100µl	***	***	100µl			200µl		50µl	
250µg/ml	100µl	***	***	100µl			200µl		50µl	
62,5µg/ml	100µl	***	***	100µl			200µl		50µl	
62,5µg/ml	100µl	***	***	100µl			200µl		50µl	
15,6µg/ml	100µl	***	***	100µl			200µl		50µl	
15,6µg/ml	100µl	***	***	100µl			200µl		50µl	
3,9µg/ml	100µl	***	***	100µl			200µl		50µl	
3,9µg/ml	100µl	***	***	100µl			200µl		50µl	
0µg/ml	100µl	***	***	100µl			200µl		50µl	
0µg/ml	100µl	****	***	100µl			200µl		50µl	
Control	***	100µl	***	100µl			200µl		50µl	
Control	***	100µl	***	100µl			200µl		50µl	
Muestra	***	***	100µ	100µl			200µl		50µl	
Muestra	***	***	100µ	100µl			200µl		50µl	

CURVA DE REGRESIÓN LINEAL DEL PERIOTRON

Unidades Periotron	microlitros de suero		
10	0,1		
13	0,2	PENDIENTE	0,00835769
32	0,3	INTERSECCION EJE	0,00416633
47	0,4		
62	0,5		
72	0,6		
86	0,7		
103	0,8		
115	0,9		
127	1		
145	1,2		
168	1,4		
185	1,6		
204	1,8		

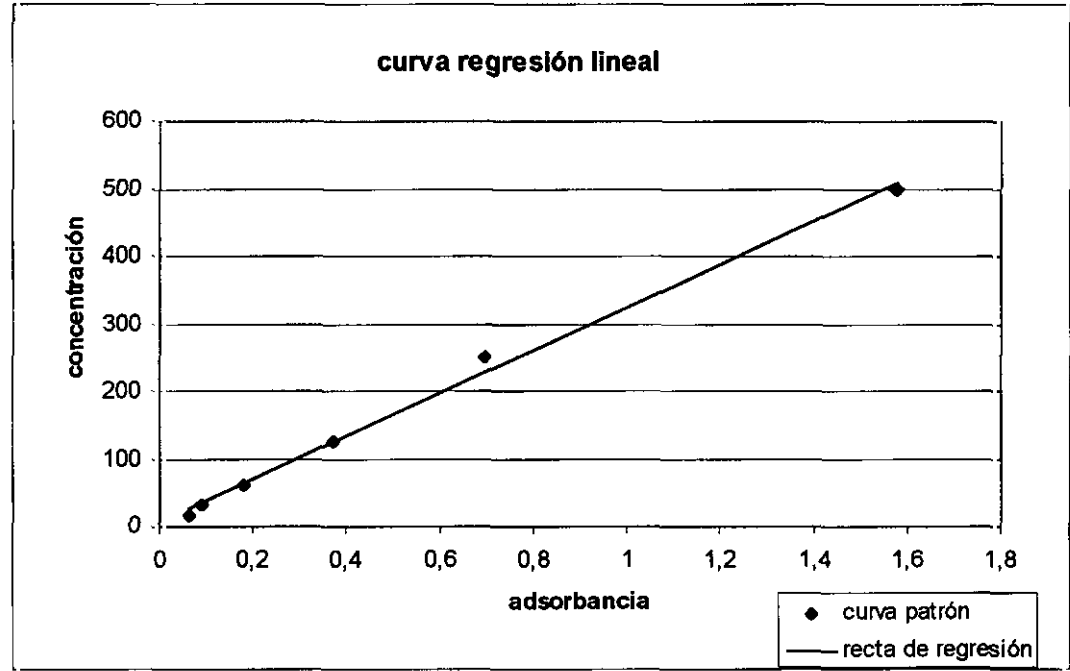


CURVA PATRÓN PRUEBA ELISA

Pendiente 318,8197891
Intersección Eje 6,02999118
Coef. Correlación 0,997945328
Coef. R2 0,995894879

fórmula regresión $y = 318,8198 x + 6,0300$

Y	X	
concentración	adsorbancia	recta
15,6	0,062	25,79681811
31,25	0,088	34,08613262
62,5	0,1805	63,57696312
125	0,3695	123,8339033
250	0,695	227,6097446
500	1,579	509,4464382



5. ANÁLISIS DE RESULTADOS

Para analizar los resultados lo primero que hicimos fue comprobar la homogeneidad de la muestra, para pasar luego a analizar cada variable por separado : dolor, inflamación y trismo y cantidad y concentración de IL-6, haciendo primero un análisis de resultados de cada grupo y posteriormente una comparación entre grupos.

HOMOGENEIDAD DE LOS GRUPOS A Y B

Se determinó si las muestras de los grupos A y B eran homogéneas, para poder asegurar que los resultados obtenidos no se debían a diferencias entre los dos grupos. Se analizaron las siguientes variables:

- 1.- Edad.
- 2.- Sexo.
- 3.- Lado de intervención.
- 4.- Situación del tercer molar.
- 5.- Posición.
- 6.- Tiempo de intervención.
- 7.- Realización de ostectomía.
- 8.- Realización de odontosección.
- 9.- Hábito tabáquico.
- 10.- Episodios anteriores de pericoronaritis.
- 11.- Cantidad de IL-6 preoperatoria.
- 12.- Concentración de IL-6 preoperatoria.
- 13.- Apertura bucal preoperatoria.
- 14.- Medidas faciales preoperatorias.

1.- EDAD.

La edad es una variable cuantitativa. Obtuvimos los siguientes resultados para cada grupo:

EDAD	METILPREDNISOLONA	DICLOFENACO
MEDIA	23,4595	23,6667
DESV.EST.	4,7877	5,7071
ERR.EST.	0,7871	0,9512
TAMAÑO MUESTRA	37	36
MÁXIMO	39	42
MÍNIMO	18	18

Al ser la edad una variable cuantitativa o continua, se utilizó para su análisis estadístico el test de la T de Student (test paramétrico que compara las medias) y el test de Mann-Whitney (test no paramétrico). No obtuvimos diferencias significativas

en cuanto a la edad con ninguno de los dos test, como se puede comprobar en la siguiente tabla:

SIGNIFICACIÓN ESTADÍSTICA

T DE STUDENT	MANN-WHITNEY
0,8669	0,6657

2.- SEXO

Se trata de una variable cualitativa o categórica. Obtuvimos las siguientes tablas de frecuencias y porcentajes:

TABLA DE FRECUENCIA

GRUPO	SEXO		TOTAL
	MUJER	VARÓN	
METILPREDNIS.	27	10	37
DICLOFENACO	19	17	36
TOTAL	46	27	73

TABLA DE PORCENTAJES

GRUPO	SEXO		TOTAL
	MUJER	VARÓN	
METILPREDNIS.	73,0	27,0	100,0
DICLOFENACO	52,8	47,2	100,0
TOTAL	63	37	100

Para determinar la aleatoriedad de la muestra, al ser la variable cualitativa o categórica, se utilizó el test de Chi-cuadrado y la corrección de Yates, con lo que pudimos comprobar que las diferencias no eran significativas.

SIGNIFICACIÓN ESTADÍSTICA

TEST ESTADÍSTICO	VALOR	GRADOS LIBERTAD	PROBABILIDAD
Chi-cuadrado de Pearson	3,193	1	0,0740
Corrección de Yates	2,385	1	0,1225

3.- LADO DE INTERVENCIÓN.

Se trata también de una variable cualitativa, por lo que se utilizó también el test de Chi-cuadrado y la corrección de Yates, obteniéndose los siguientes resultados:

TABLA DE FRECUENCIA

GRUPO	LADO		TOTAL
	DERECHO	IZQUIERDO	
METILPREDNIS.	21	16	37
DICLOFENACO	18	18	36
TOTAL	39	41	73

TABLA DE PORCENTAJES

GRUPO	LADO		TOTAL
	DERECHO	IZQUIERDO	
METILPREDNIS.	56,8	43,2	100
DICLOFENACO	50,0	50,0	100
TOTAL	53,4	46,6	100

SIGNIFICACIÓN ESTADÍSTICA

TEST ESTADÍSTICO	VALOR	GRADOS LIBERTAD	PROBABILIDAD
Chi-cuadrado de Pearson	0,335	1	0,5629
Corrección de Yates	0,118	1	0,7309

Es decir, no hubo diferencias estadísticamente significativas en el lado de intervención. Esto es importante pues en el lado izquierdo hay una peor visibilidad y acceso para el operador.

4.- SITUACIÓN DEL TERCER MOLAR.

Se diferenció entre dos categorías. Superficial o profundo, considerándose superficial cuando un tercio o más de la corona del cordal se encontraba por encima del límite amelocementario del segundo molar. Se trata de nuevo de una variable cualitativa por lo que se usó el test del Chi-cuadrado y la corrección de Yates:

TABLA DE FRECUENCIA

GRUPO	SITUACIÓN		TOTAL
	PROFUNDO	SUPERFICIAL	
METILPREDNIS.	13	24	37
DICLOFENACO	17	19	36
TOTAL	30	43	73

TABLA DE PORCENTAJES

GRUPO	SITUACIÓN		TOTAL
	PROFUNDO	SUPERFICIAL	
METILPREDNIS.	35,1	64,9	100
DICLOFENACO	47,2	52,8	100
TOTAL	41,1	58,9	100

SIGNIFICACIÓN ESTADÍSTICA

TEST ESTADÍSTICO	VALOR	GRADOS LIBERTAD	PROBABILIDAD
Chi-cuadrado de Pearson	1,101	1	0,2940
Corrección de Yates	0,659	1	0,4171

Las diferencias no fueron significativas por lo que los resultados posteriores no se pueden achacar a la situación del tercer molar.

5.- POSICIÓN

Se consideraron cuatro posiciones en relación con el eje axial del segundo molar.

Como se puede observar en las siguientes tablas la posición mesioangular fue la más frecuente. Al realizar el Chi-cuadrado se pudo comprobar que la diferencia no fue significativa.

TABLA DE FRECUENCIA

GRUPO	POSICIÓN				TOTAL
	DISTAL	VERTICAL	MESIAL	HORIZONTAL	
METILPREDNIS.	5	6	18	8	37
DICLOFENACO	3	4	17	12	36
TOTAL	8	10	35	20	73

TABLA DE PORCENTAJES

GRUPO	POSICIÓN				TOTAL
	DISTAL	VERTICAL	MESIAL	HORIZONTAL	
METILPREDNIS.	13,5	16,2	48,6	21,6	100
DICLOFENACO	8,3	11,1	47,2	33,3	100
TOTAL	11,0	13,7	47,9	27,4	100

SIGNIFICACIÓN ESTADÍSTICA

TEST ESTADÍSTICO	VALOR	GRADOS LIBERTAD	PROBABILIDAD
Chi-cuadrado de Pearson	1,715	3	0,6336

Como podemos observar no hubo diferencias significativas en la posición por lo que ésta no influyó en los resultados.

6.- TIEMPO DE INTERVENCIÓN

Se tomó el tiempo en minutos desde el comienzo de la incisión hasta la finalización de la sutura.

Se realizó el estudio estadístico con los test para variables cuantitativas: La T de Student y Mann-Whitney, para ver si la diferencia entre grupos es o no significativa.

TIEMPO	METILPREDNISOLONA	DICLOFENACO
MEDIA	11,4865	10,9722
DESV. EST.	5,9190	5,8088
ERR. EST.	0,9731	0,9681
TAMAÑO MUESTRA	37	36
MÁXIMO	35,0	30,0
MÍNIMO	4	4

SIGNIFICACIÓN ESTADÍSTICA

T de Student	Mann-Whitney
0,7091	0,4998

Como puede observarse, los tiempos medios de duración de la intervención, así como la duración máxima y mínima varía muy poco entre ambos grupos.

7.- REALIZACIÓN DE OSTECTOMÍA.

La realización de ostectomía es una maniobra traumática que puede suponer un peor postoperatorio para el paciente y una mayor liberación de citoquinas, por lo que decidimos tenerlo en cuenta a la hora de valorar la homogeneidad de las muestras. Estos fueron los resultados:

TABLA DE FRECUENCIA

GRUPO	OSTECTOMÍA		TOTAL
	NO	SI	
METILPREDNIS.	4	33	37
DICLOFENACO	1	35	36
TOTAL	5	68	73

TABLA DE PORCENTAJES

GRUPO	OSTECTOMÍA		TOTAL
	NO	SI	
METILPREDNIS.	10.8	89.2	100
DICLOFENACO	2.8	97.2	100
TOTAL	6.8	93.2	100

SIGNIFICACIÓN ESTADÍSTICA

TEST ESTADÍSTICO	VALOR	GRADOS LIBERTAD	PROBABILIDAD
Chi-cuadrado de Pearson	1.845	1	0.1743
Corrección de Yates	0.801	1	0.3707

A la vista de los resultados podemos afirmar que no hubo diferencias significativas entre los dos grupos.

8.-REALIZACIÓN DE ODONTOSECCIÓN.

La dontosección supone un alargamiento del tiempo de intervención y un mayor trauma por lo que era importante que no hubiera diferencias significativas entre ambos grupos, lo que pudimos comprobar mediante el Chi-cuadrado de Pearson.

TABLA DE FRECUENCIA

GRUPO	ODONTOSECCIÓN		TOTAL
	NO	SI	
METILPREDNIS.	23	14	37
DICLOFENACO	19	17	36
TOTAL	42	31	73

TABLA DE PORCENTAJES

GRUPO	ODONTOSECCIÓN		TOTAL
	NO	SI	
METILPREDNIS.	62.2	37.8	100
DICLOFENACO	52.8	47.2	100
TOTAL	57.5	42.5	100

SIGNIFICACIÓN ESTADÍSTICA

TEST ESTADÍSTICO	VALOR	GRADOS LIBERTAD	PROBABILIDAD
Chi-cuadrado de Pearson	0.658	1	0.4174
Corrección de Yates	0.330	1	0.5658

9.- HÁBITO TABÁQUICO.

Se valoró, como posible influencia en el postoperatorio, el hábito de fumar, no habiendo diferencias significativas entre los dos grupos como demuestran las siguientes tablas:

TABLA DE FRECUENCIA

GRUPO	HÁBITO TABÁQUICO				TOTAL
	NO FUMA	FUMA1-9	FUMA10-19	FUMA>20	
METILPREDNIS.	20	8	4	5	37
DICLOFENACO	23	6	5	2	36
TOTAL	43	14	9	7	73

TABLA DE PORCENTAJES

GRUPO	HÁBITO TABÁQUICO				TOTAL
	NO FUMA	FUMA1-9	FUMA10-19	FUMA>20	
METILPREDNIS.	54,1	21,6	10,8	13,5	100
DICLOFENACO	63,9	16,7	13,9	5,6	100
TOTAL	58,9	19,2	12,3	9,6	100

SIGNIFICACIÓN ESTADÍSTICA

TEST ESTADÍSTICO	VALOR	GRADOS LIBERTAD	PROBABILIDAD
Chi-cuadrado de Pearson	1,878	3	0,5980

10.- EPISODIOS DE PERICORONARITIS ANTERIORES A LA CIRUGÍA.

Que el paciente haya tenido episodios anteriores de pericoronaritis puede tener alguna influencia sobre la IL-6 por lo que también se anotó en la ficha clínica.

TABLA DE FRECUENCIA

GRUPO	EPISODIOS ANTERIORES		TOTAL
	NO	SI	
METILPREDNIS.	29	8	37
DICLOFENACO	28	8	36
TOTAL	57	16	73

TABLA DE PORCENTAJES

GRUPO	EPISODIOS ANTERIORES		TOTAL
	NO	SI	
METILPREDNIS.	78,4	21,6	100
DICLOFENACO	77,8	22,2	100
TOTAL	78,1	21,9	100

SIGNIFICACIÓN ESTADÍSTICA

TEST ESTADÍSTICO	VALOR	GRADOS LIBERTAD	PROBABILIDAD
Chi-cuadrado de Pearson	0,004	1	0,9506
Corrección de Yates	0,0	1	1,0

Podemos afirmar que no hubo diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos.



11.- CANTIDAD DE IL-6 PREOPERATORIA

Como se explicó en el apartado de materiales y metodología se tomó una muestra de fluido crevicular gingival antes de la extracción quirúrgica del tercer molar inferior para cuantificar la presencia de IL-6 antes de la intervención (cantidad A). Se trata de una variable cuantitativa de la que obtuvimos los siguientes resultados para cada grupo:

CANTIDAD DE IL-6 A	METILPREDNISOLONA	DICLOFENACO
MEDIA	3,3232	3,3089
DESV. EST.	0,3745	0,2034
ERR. EST.	0,0633	0,0344
TAMAÑO MUESTRA	35	35
MÁXIMO	4,3596	3,8535
MÍNIMO	2,7029	2,8806

Utilizamos, al igual que en variables continuas anteriores, el test de la T de Student y el de Mann-Whitney, y, como demuestra la siguiente tabla no obtuvimos diferencias significativas entre los dos grupos. (Eran pacientes sanos que aún no habían sido intervenidos ni habían tomado ningún tipo de medicación)

SIGNIFICACIÓN ESTADÍSTICA

T de Student	Mann-Whitney
0,8440	0,7024

12.- CONCENTRACIÓN DE IL-6 PREOPERATORIA.

Para obtener concentración de IL-6 dividimos la cantidad de IL-6 entre el fluido crevicular gingival (pues la cantidad de fluido crevicular gingival varía entre cada paciente y según el momento de la toma). Los resultados obtenidos se encuentran reflejados en la siguiente tabla:

CONCENTRACIÓN DE IL-6 A	METILPREDNIS.	DICLOFENACO
MEDIA	3,5601	3,3849
DESV. EST.	0,4241	0,2921
ERR. EST.	0,0717	0,0494
TAMAÑO MUESTRA	35	35
MÁXIMO	4,3704	4,2090
MÍNIMO	2,8125	2,9018

En este caso es de destacar que las diferencias entre grupos si fueron significativas para $p < 0,05$.

SIGNIFICACIÓN ESTADÍSTICA

T de Student	Mann-Whitney
0,0487	0,0842

13.- APERTURA BUCAL PREOPERATORIA.

Se midió la distancia interincisal en milímetros en máxima apertura antes de anestesiarse al paciente.

Es una variable continua de la que no se encontraron diferencias significativas entre los dos grupos:

APERTURA BUCAL PREOPER.	METILPREDNIS.	DICLOFENACO
MEDIA	49,3243	49,7500
DESV. EST.	5,3699	7,0117
ERR. EST.	0,8828	1,1686
TAMAÑO MUESTRA	37	36
MÁXIMO	59,0	66,0
MÍNIMO	37,0	38,0

SIGNIFICACIÓN ESTADÍSTICA

T de Student	Mann-Whitney
0,7714	0,8380

14.- MEDIDAS FACIALES PREOPERATORIAS.

Para poder cuantificar el grado de inflamación postoperatorio hay que partir de unas medidas faciales preoperatorias, por ello, se midió en el paciente la distancia desde el trago hasta la comisura bucal o ángulo bucal que se denominó trago-ángulo bucal (T-AB), una segunda medición fue del trago al pogonion (T-P) y la tercera del ángulo del ojo al ángulo de la mandíbula (AO-AM). Estas mediciones se dan en milímetros. A estas siglas les sigue el número 1 por tratarse de la primera medición o preoperatoria. Los resultados comparando los dos grupos fueron los siguientes:

T-AB 1	METILPREDNIS.	DICLOFENACO
MEDIA	10,8973	11,1250
DESV. EST.	0,6946	0,6500
ERR. EST.	0,1142	0,1083
TAMAÑO MUESTRA	37	36
MÁXIMO	12,5	12,5
MÍNIMO	9,6	9,5

T-P 1	METILPREDNIS.	DICLOFENACO
MEDIA	14,7324	14,9333
DESV. EST.	0,9727	1,0521
ERR. EST.	0,1599	0,1753
TAMAÑO MUESTRA	37	36
MÁXIMO	16,7	16,8
MÍNIMO	12,9	11,7

AO-AM 1	METILPREDNIS.	DICLOFENACO
MEDIA	10,9730	11,0250
DESV. EST.	0,8191	0,7032
ERR. EST.	0,1347	0,1172
TAMAÑO MUESTRA	37	36
MÁXIMO	13,4	12,4
MÍNIMO	9,5	9,4

La significación estadística viene representada en la siguiente tabla:

SIGNIFICACIÓN ESTADÍSTICA

	T STUDENT	MANN-WHITNEY
T-AB 1	0,1528	0,1570
T-P 1	0,3996	0,3124
AO-AM 1	0,7720	0,6465

Los parámetros analizados fueron dolor, inflamación y trismo, que son, como hemos comentado anteriormente los síntomas más frecuentes en el postoperatorio del tercer molar inferior, y la cantidad y concentración de IL-6. Hemos analizado estos parámetros en el grupo A y en el B por separado, para ver la evolución del postoperatorio a lo largo del tiempo de estudio en cada grupo y posteriormente realizamos una estadística comparativa entre los dos grupos.

A continuación vamos a analizar las variables clínicas realizando primero una estadística descriptiva y posteriormente una comparación entre los dos grupos.

DOLOR

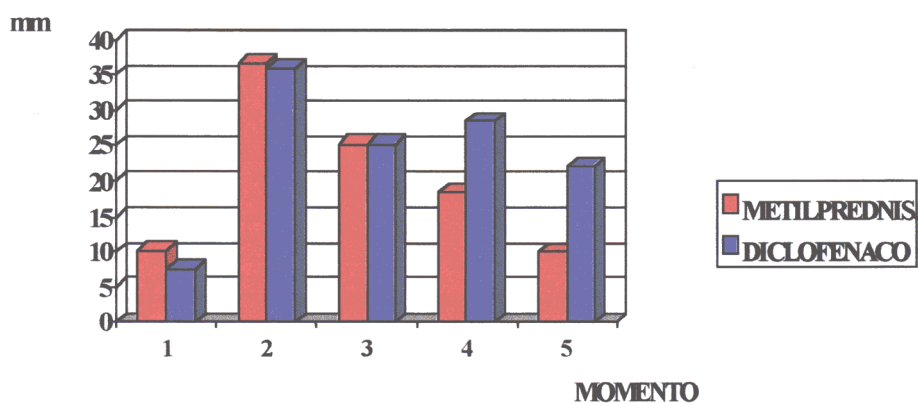
Como se comentó en el apartado de materiales y metodología el dolor se midió mediante una escala visual analógica en la que el 0 representa no dolor y el 100 dolor máximo o insoportable y entre estos valores el paciente señala el que él piensa que representa su grado de dolor una hora después de la intervención, a las 8 horas, 24, 48 y 72 horas. Al ser el dolor algo subjetivo se añadió también una escala semicuantitativa para complementar la analógico-visual, en la que el dolor podía ser ausente, leve, moderado o intenso. Por último el paciente debía indicar el número de analgésicos consumidos desde el primer al quinto día.

La siguiente tabla nos resume la estadística descriptiva del dolor según la escala visual analógica.

ESCALA VISUAL ANALÓGICA (EVA)

		D 1(1H)	D 2(8H)	D 3(24H)	D 4(48H)	D 5(72H)
GRUPO METILPRED.	MEDIA	10.2778	36.7568	25.4054	18.3784	10.0000
	DESV. EST.	20.1404	28.3876	22.0598	19.9323	12.6381
	ERR. EST.	3.3567	4.6669	3.6266	3.2769	2.0777
	TAMAÑO	36	37	37	37	37
	MÁXIMO	90	90	75	80	50
	MÍNIMO	0	0	0	0	0
GRUPO DICLOFENACO	MEDIA	7.6111	36.0000	25.2222	28.3333	22.0278
	DESV. EST.	18.1899	24.4716	23.5203	27.3078	26.3379
	ERR. EST.	3.0317	4.0786	3.9201	4.5513	4.3896
	TAMAÑO	36	36	36	36	36
	MÁXIMO	70	90	90	90	90
	MÍNIMO	0	0	0	0	0
SIGNIFICACIÓN		0.5574	0.9034	0.9727	0.08	0.01(SIG.)

Como podemos observar el mayor dolor se produce a las 8 horas, cuando ha desaparecido la anestesia, a las 24 horas no es tan intenso y a las 48 y 72 horas encontramos un comportamiento diferente en ambos grupos, siendo esta diferencia casi significativa a las 48 horas (0.08) y muy significativa a las 72 horas ($p=0.01$), presentando más dolor los pacientes del grupo de diclofenaco. Lo podemos ver de forma mucho más representativa en una gráfica.



ESCALA SEMICUANTITATIVA

Como hemos comentado anteriormente el paciente debía señalar si el dolor era ausente, leve, moderado o intenso y esta fue la distribución de la intensidad de dolor a lo largo de esos cinco días en tablas de frecuencias y de porcentajes:

TABLA DE FRECUENCIAS

		AUSENTE	LEVE	MODERADO	INTENSO
GRUPO METILPRED.	1° DÍA	0	11	18	8
	2° DÍA	9	12	13	3
	3° DÍA	18	11	6	2
	4° DÍA	24	9	4	0
	5° DÍA	28	7	2	0
GRUPO DICLOFENACO	1° DÍA	0	14	15	7
	2° DÍA	6	12	15	3
	3° DÍA	10	9	12	5
	4° DÍA	15	7	11	3
	5° DÍA	21	5	10	0

TABLA DE PORCENTAJES

		AUSENTE	LEVE	MODERADO	INTENSO
GRUPO METILPRED.	1° DÍA	0.0	29.7	48.6	21.6
	2° DÍA	24.3	32.4	35.1	8.1
	3° DÍA	48.6	29.7	16.2	5.4
	4° DÍA	64.9	24.3	10.8	0.0
	5° DÍA	75.7	18.9	5.4	0.0
GRUPO DICLOFENACO	1° DÍA	0.0	38.9	41.7	19.4
	2° DÍA	16.7	33.3	41.7	8.3
	3° DÍA	27.8	25.0	33.3	13.9
	4° DÍA	41.7	19.4	30.6	8.3
	5° DÍA	58.3	13.9	27.8	0.0

SIGNIFICACIÓN				
INT 1	INT2	INT 3	INT 4	INT 5
0.7097	0.8663	0.1240	0.0354 (SIG.)	0.0359 (SIG.)

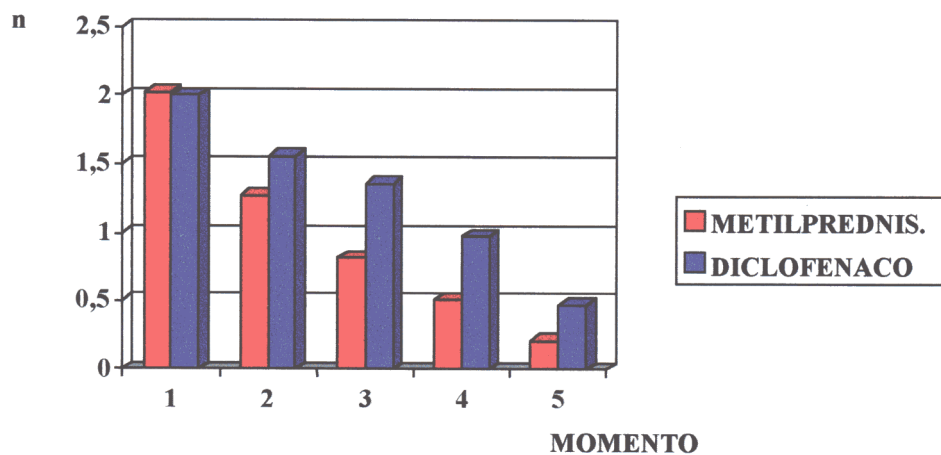
Las diferencias entre ambos grupos son estadísticamente significativas en el 4° día y en el 5° día ($p < 0.05$), habiendo un menor dolor en el grupo de metilprednisolona.

ANALGÉSICOS DE RESCATE CONSUMIDOS

Los resultados de la estadística descriptiva fueron los siguientes:

		1° día	2° día	3° día	4° día	5° día
GRUPO METILPRED.	MEDIA	2.0270	1.2703	0.8108	0.5135	0.2162
	DESV. EST.	1.0668	1.2616	1.0230	1.0171	0.5341
	ERR. EST.	0.1754	0.2074	0.1682	0.1672	0.0878
	TAMAÑO	37	37	37	37	37
	MÁXIMO	5	4	3	4	2
	MÍNIMO	0	0	0	0	0
GRUPO DICLOFENACO	MEDIA	2.0000	1.5556	1.3611	0.9722	0.4722
	DESV. EST.	0.9258	1.2749	1.2225	1.3199	0.8779
	ERR. EST.	0.1543	0.2125	0.2037	0.2200	0.1463
	TAMAÑO	36	36	36	36	36
	MÁXIMO	4	4	4	4	3
	MÍNIMO	1	0	0	0	0
SIGNIFICACIÓN		0.9084	0.3398	0.04(SIG.)	0.1017	0.1390

El número de analgésicos consumidos va siguiendo una progresión descendente hasta el quinto día, es decir los síntomas van disminuyendo en ambos grupos. Salvo el primer día los pacientes del grupo de diclofenaco tuvieron necesidad de utilizar más analgésicos de rescate, haciéndose esta diferencia estadísticamente significativa el tercer día ($p < 0.05$). Vamos a ver esta diferencia en una gráfica:



También nos interesó evaluar la evolución en el tiempo de ese dolor postoperatorio en cada grupo. En el grupo de metilprednisolona el comportamiento fue el siguiente:

	D 1	D 2	D 3	D 4	D 5	SIGNIF.
METILPRED.	10.27778	36.94444	26.11111	18.88889	10.27778	0

Como puede apreciarse la diferencia fue significativa. Vamos a ver en la tabla de correlaciones múltiples la comparación de estos momentos dos a dos:

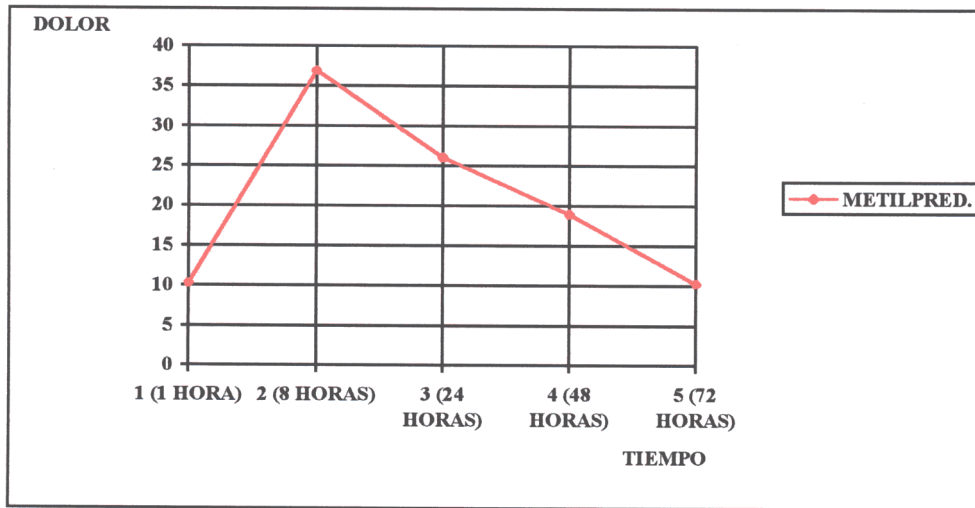
NIVELES DE COMPARACIÓN	LÍMITE INFERIOR	DIFERENCIA MEDIA	LÍMITE SUPERIOR
1 vs 2 (SIG.)	-38.2181	-26.6667	-15.1152
1 vs 3 (SIG.)	-27.3848	-15.8333	-4.2819
1 vs 4 (NO SIG.)	-20.1626	-8.6111	2.9403
1 vs 5 (NO SIG.)	-11.5515	0	11.5515
2 vs 3 (NO SIG.)	-0.7181	10.8333	22.3848
2 vs 4 (SIG.)	6.5041	18.0556	29.6070
2 vs 5 (SIG.)	15.1152	26.6667	38.2181
3 vs 4 (NO SIG.)	-4.3292	7.2222	18.7737
3 vs 5 (SIG.)	4.2819	15.8333	27.3848
4 vs 5 (NO SIG.)	-2.9403	8.6111	20.1626

Como puede apreciarse es significativa la diferencia entre la primera hora y las 8 horas (en el primer caso aún dura la anestesia y en el segundo no) y entre la primera hora y las 24 horas. Sin embargo no es significativa la diferencia entre esta primera hora y las 48 y 72 horas en que el dolor va bajando hasta acercarse a los niveles previos (de hecho, casualmente, la media de D 1 y D 5 es la misma)

Entre las 8 horas y las 24 horas la diferencia no fue significativa, siendo ambos momento los de mayor dolor, y sí fue significativa entre las 8 horas y las 48 y 72 horas, puesto que como hemos mencionado anteriormente el dolor va paulatinamente disminuyendo hasta alcanzar los niveles de la primera hora.

Entre las 24 y 48 horas la diferencia no fue significativa pero sí entre las 24 y las 72 horas, puesto que a las 72 horas el dolor disminuye mucho. Por último entre las 48 y 72 horas no existe diferencia significativa, siendo en ambos casos el dolor discreto.

Estos datos los vemos resumidos en una gráfica:



En el grupo de diclofenaco el comportamiento fue parecido aunque hubo algunas diferencias:

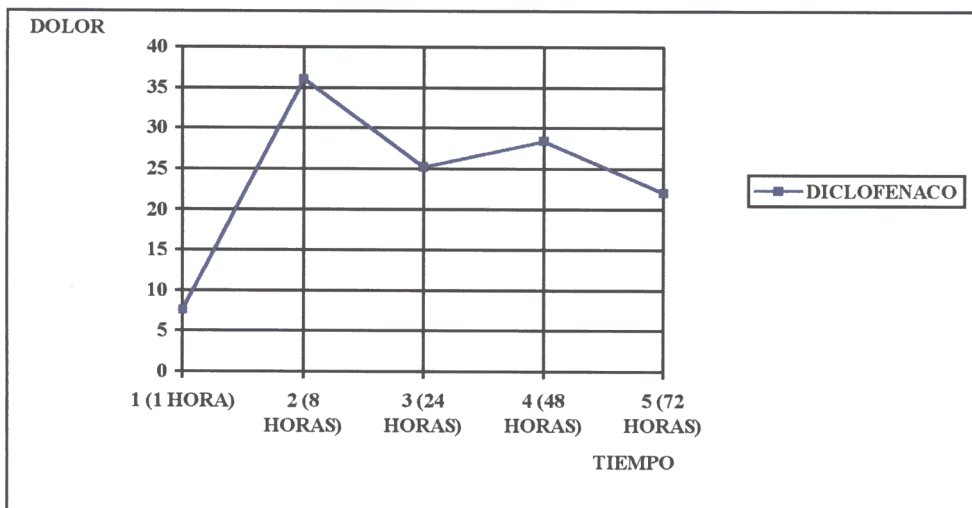
	D 1	D 2	D 3	D 4	D 5	SIGNIF.
DICLOFENACO	7.61111	36.0	25.22222	28.33333	22.02778	0

Como puede apreciarse la diferencia fue significativa. Vamos a ver en la tabla de correlaciones múltiples la comparación de estos momentos dos a dos:

NIVELES DE COMPARACIÓN	LÍMITE INFERIOR	DIFERENCIA MEDIA	LÍMITE SUPERIOR
1 vs 2 (SIG.)	-39.7440	-28.3889	-17.0338
1 vs 3 (SIG.)	-28.9662	-17.6111	-6.2560
1 vs 4 (SIG.)	-32.0774	-20.7222	-9.3671
1 vs 5 (SIG.)	-25.7718	-14.4167	-3.0615
2 vs 3 (NO SIG.)	-0.5774	10.7778	22.1329
2 vs 4 (NO SIG.)	-3.6885	7.6667	19.0218
2 vs 5 (SIG.)	2.6171	13.9722	25.3274
3 vs 4 (NO SIG.)	-14.4662	-3.1111	8.2440
3 vs 5 (NO SIG.)	-8.1607	3.1944	14.5496
4 vs 5 (NO SIG.)	-5.0496	6.3056	17.6607

Al contrario que en el grupo de metilprednisolona todas las comparaciones con la primera hora después de la intervención fueron significativas, lo que significa que en este grupo a las 72 horas aún no se había vuelto a los niveles de la primera hora. Como se puede observar no hubo diferencias significativas entre las 8 horas y las 24 y 48 y sí entre las 8 horas y las 72 horas, siendo el dolor en este momento mucho menor. Y fue parecido el dolor (diferencia no significativa) entre las 24, 48 y 72 horas y entre estos dos últimos momentos entre sí.

Lo vemos también resumido en una gráfica:



ANALGÉSICOS DE RESCATE CONSUMIDOS

El paciente recibió instrucciones de tomar metamizol magnésico (Nolotil®) en caso de sentir dolor, y que apuntara el número de estos analgésicos consumidos del primer al quinto día. Denominamos a cada uno de estos momentos N 1, N 2, N 3, N 4 y N5.

La media de analgésicos consumidos en cada uno de estos días en el grupo de metilprednisolona fue la siguiente:

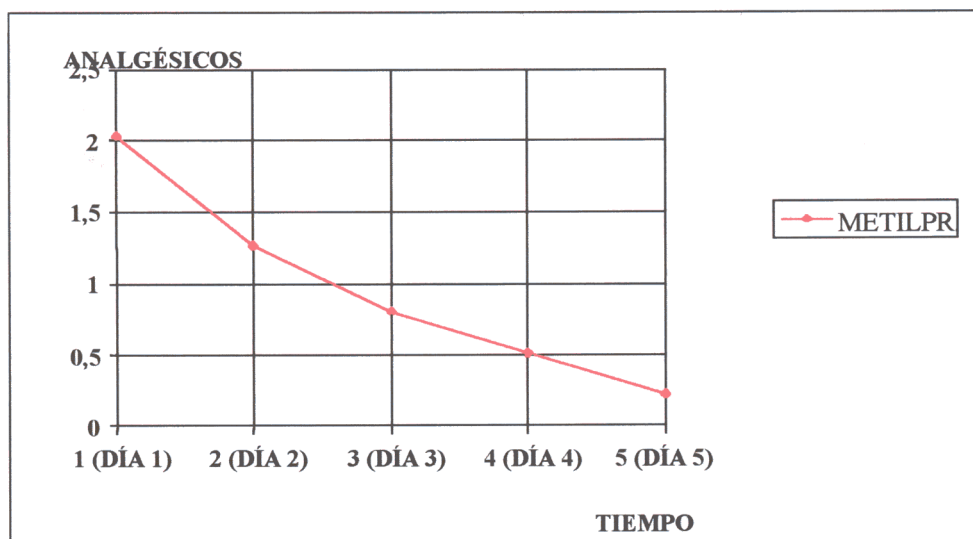
	N 1	N 2	N 3	N 4	N 5	SIGNIF.
METILPRED.	2.02703	1.27027	0.81081	0.51351	0.21622	0

A la vista de esta tabla podemos afirmar que la diferencia fue significativa. A continuación valoraremos la significación comparando los momentos dos a dos.

NIVELES DE COMPARACIÓN	LÍMITE INFERIOR	DIFERENCIA MEDIA	LÍMITE SUPERIOR
1 vs 2 (SIG.)	0.2601	0.7568	1.2534
1 vs 3 (SIG.)	0.7195	1.2162	1.7129
1 vs 4 (SIG.)	1.0168	1.5135	2.0102
1 vs 5 (SIG.)	1.3141	1.8108	2.3075
2 vs 3 (NO SIG.)	-0.0372	0.4595	0.9561
2 vs 4 (SIG.)	0.2601	0.7568	1.2534
2 vs 5 (SIG.)	0.5574	1.0541	1.5507
3 vs 4 (NO SIG.)	-0.1994	0.2973	0.7940
3 vs 5 (SIG.)	0.0979	0.5946	1.0913
4 vs 5 (NO SIG.)	-0.1994	0.2973	0.7940

Las diferencias fueron significativas, excepto en el segundo y tercer día en los que el paciente toma prácticamente el mismo número de analgésicos y entre tercero y cuarto y cuarto y quinto en que ocurre lo mismo.

Veámoslo en la siguiente gráfica:



ABRIR CONTINUACIÓN ANÁLISIS DE LOS...

